Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie
im Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin
Leiter: Prof. Dr. H. Kewitz

Bestimmung einer erblichen Defizienz im Cytochrom-P-450-System (Typ Debrisoquin) bei epileptischen Patienten mit Phenytoin-Therapie

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Frank Otte
aus Berlin

1985

Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie
im Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin
Leiter: Prof. Dr. H. Kewitz

Bestimmung einer erblichen Defizienz im Cytochrom-P-450-System (Typ Debrisoquin) bei epileptischen Patienten mit Phenytoin-Therapie

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Frank Otte
aus Berlin

Referent: Priv.-Doz. Dr. I. Roots

Korreferent: Prof. Dr. K. Sperling

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am 10.9. 1985

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1	EINLEITUNG	1
1.1	Pharmakogenetik des Phenytoinstoffwechsels	1
1.2	Pharmakogenetik des Debrisoquinstoffwechsels	4
1.3	Fragestellung	9
2	MATERIAL UND METHODEN	10
2.1	Auswahl des Kollektivs	10
2.2	Demographische und klinische Daten der untersuchten Epileptiker	11
2.3	Versuchsdurchführung	12
2.3.1	Pharmakogenetische Typisierung mit Debrisoquin	13
2.3.2	Laborklinische Untersuchungen	16
2.3.3	D-Glukarsäure-Ausscheidung	17
2.3.4	Phenytoin-Serumspiegel	17
2.4	Nachweismethode für Debrisoquin und 4-OH-Debrisoquin	17
2.4.1	Reagentien	17
2.4.2	Derivatisierung	18
2.4.3	Extraktionsverfahren	19
2.4.4	Meßvorgang	19
2.4.5	Eichreihe	20
2.4.6	Berechnung des Metabolisierungsquotienten	22
2.4.7	Zuverlässigkeit der Nachweismethode	22
2.5	Statistische Berechnungen	23
3	ERGEBNISSE	25
3.1	Metabolisierungsquotient von Debrisoquin	25
3.1.1	Verteilung des Metabolisierunsquotienten	25
3.1.2	Bestimmung des Hydroxilierer-Phänotyps	27
3.1.3	Abschätzung des exakten Trennwertes für die Bestimmung des Hydroxilierer-Phänotyps	28
3.1.4	Abschätzung der Heterozygotenfrequenz	29
3.1.5	Einfluß einer antiepileptischen Komedikation auf den Metabolisierungsquotienten	29

		Seite
3.2	Wiederfindung der Testsubstanz	30
3.2.1	Wiederfindung von unverändertem Debrisoquin	30
3.2.2	Wiederfindung der Testsubstanz als 4-OH-Debrisoquin	33
3.2.3	Gesamtwiederfindung	34
3.3	Bedeutung des Hydroxilierer-Phänotyps für andere Untersuchungsergebnisse	38
3.3.1	Assoziation des Hydroxilierer-Phänotyps mit dem individuellen Phenytoindosisbedarf	38
3.3.2	Einfluß klinischer Daten auf Metabolisierungsquotienten und Hydroxilierer-Phänotyp	43
3.4	Auftreten und Einfluß einer Enzyminduktion	44
3.4.1	γ-Glutamyltransferase	44
3.4.2	D-Glukarsäure	46
3.5	Unterschiede zwischen Männern und Frauen bezüglich des Metabolisierungsquotienten	48
4	DISKUSSION	52
4.1	Eignung der Methode zur Bestimmung des Hydroxilierer-Phänotyps	52
4.1.1	Urinsammelperiode	52
4.1.2	Höhe der Debrisoquin-Testdosis	53
4.1.3	Analyseverfahren	54
4.1.4	Wiederfindung der Testsubstanz	54
4.2	Bedeutung der durch Debrisoquin charakterisierten Isoenzymdefizienz im Cytochrom-P-450-System für die Therapie mit Phenytoin	56
4.2.1	Häufigkeitsverteilung des Metabolisierungsquotienten von Debrisoquin bei epileptischen Patienten	56
4.2.2	Phenytoinstoffwechsel	58
4.2.3	Assoziation des Hydroxilierer-Phänotyps mit Phenytoin-Serumkonzentration und -Dosisbedarf	60

		Seite
5	ZUSAMMENFASSUNG	63
6	ANHANG	65
7	LITERATURVERZEICHNIS	69

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549615_0063

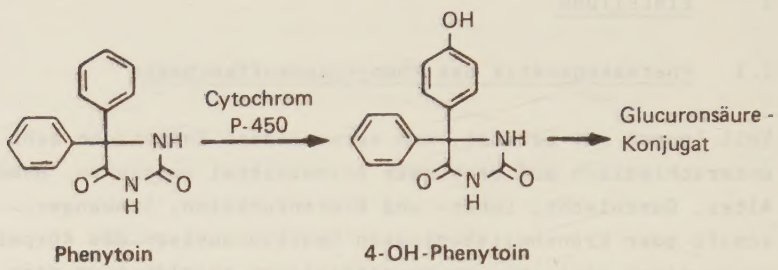
1 EINLEITUNG

1.1 Pharmakogenetik des Phenytoinstoffwechsels

Seit langem ist bekannt, daß verschiedene Individuen sehr unterschiedlich auf bestimmte Arzneimittel reagieren. Neben Alter, Geschlecht, Leber- und Nierenfunktion, Schwangerschaft oder krankheitsbedingten Reaktionsweisen des Körpers sowie einer Vielzahl von Umweltfaktoren spielen auch genetische Faktoren für Ausmaß und Häufigkeit erwünschter und unerwünschter Wirkungen von Pharmaka eine bedeutende Rolle.

Familien- und Zwillingsuntersuchungen konnten den Einfluß der Vererbung auf pharmakokinetische Parameter für viele Medikamente gut dokumentieren. Meist sind offensichtlich mehrere Gene beteiligt, in einigen Fällen konnte aber auch eine Abhängigkeit von nur einem Gen gezeigt werden. Beispiele für solche monogenetisch vererbten Anlagen sind die protrahierte Apnoe nach Relaxierung mit Succinyldicholin aufgrund eines Pseudocholinesterase-Mangels oder die langsame bzw. schnelle Acetylierung von Substanzen wie Isoniazid, Hydralazin, Procainamid sowie verschiedenen Sulfonamiden. In beiden Fällen liegt eine deutlich verminderte Aktivität eines abbauenden Enzyms vor.

Auch für Phenytoin ist die Verminderung der Aktivität eines Enzyms als Ursache der individuell unterschiedlichen Pharmakokinetik bekannt. Ein Zusammenhang zwischen der Eigenschaft, schon nach geringen Phenytoindosen eine Intoxikation zu erleiden, und einer ungenügenden Hydroxilierung wurde bereits 1964 von Kutt et al. (26) beschrieben. Phenytoin wird in der Leber zu seinem Hauptmetabolit 5-Hydroxyphenyl-5-phenylhydantoin (HPPH, 4-OH-DPH) abgebaut, siehe Abb. 1.



Weitere wichtige Metaboliten: 3-OH-Phenytoin
3,4-Dihydrodiol-Phenytoin

Abb. 1: Hauptabbauweg für Phenytoin beim Menschen

Kutt et al. fanden, daß bei einem Kontrollkollektiv die Ausscheidung an 4-OH-DPH im Urin (überwiegend als Glukuronid) unabhängig von der Dosis 60 - 70 % des verabreichten Phenytoin ausmachte. Bei Patienten, die zu Intoxikationen neigten, war dieser Anteil jedoch vermindert, während der Anteil des im Urin unverändert ausgeschiedenen DPH stieg.

Eine Familienuntersuchung ergab Hinweise für die Erblichkeit des Phenytoin-Hypometabolismus, wenngleich der genaue Erbgang nicht geklärt werden konnte. Vasko et al. (50) konnten Kutts Vermutung einer Erblichkeit bestätigen. Sie untersuchten den Phenytoinstoffwechsel einer Familie, von der ein Familienmitglied bereits nach einer Dosis von 4,6 mg/kg/d die klinischen Zeichen einer Phenytoinintoxikation bot und einen Serumspiegel von 52 µg/ml aufwies. Die Halbwertzeit beim Propositus betrug 30,6 h, weniger als 50 % der applizierten Dosis wurden in Form des Hauptmetaboliten ausgeschieden. Die durchschnittliche DPH-Halbwertzeit in einem Kontrollkollektiv betrug 18,6 h. Verlängerte Halbwertzeiten von DPH sowie geringe Ausscheidungen an 4-OH-DPH traten über 3 Generationen hinweg auf.

Weitere Hinweise auf die Erblichkeit gaben die von Andreasen et al. (4) nach intravenöser Gabe von 100 mg Phenytoin bei 14 männlichen Zwillingspaaren bestimmten Halbwertzeiten. Die Varianz der Halbwertzeiten innerhalb eineiiger Zwillingspaare war signifikant kleiner als jene, die zwischen zweieiigen Zwillingen auftrat. Der Erblichkeitsindex (52) wurde mit 0,85 angegeben und deutet damit auf einen überwiegenden Einfluß genetischer Faktoren auf die Phenytoin-Halbwertzeit beim Menschen hin.

Sloan et al. (46) berichteten 1981 über den Einfluß eines neu entdeckten Polymorphismus im Cytochrom-P-450-System auf den Stoffwechsel von Phenytoin. Sloan et al. verglichen die Ausscheidung von 4-OH-Phenytoin nach einmaliger oraler Gabe von 200 mg Phenytoin bei 6 Personen mit bekannter funktioneller Ineffizienz eines bestimmten Isoenzyms vom Cytochrom P-450 mit jener von 5 Normalpersonen. Die Autoren errechneten signifikant längere Phenytoinhalbwertzeiten und geringere Metabolitenbildungsgeschwindigkeiten für die Gruppe der Stoffwechseldefizienten. Andoh et al. (3) kamen bei der Untersuchung von je vier Ghanesen zu einem ähnlichen Ergebnis, wenngleich auch starke interethnische Unterschiede zu der englischen Studie sichtbar wurden. Das in Frage stehende Isoenzym des Cytochrom-P-450-Systems zeichnet sich durch eine hohe Substratspezifität für Debrisoquin aus, daher eignet sich Debrisoquin als eine Testsubstanz für eine Phänotypisierung dieses Polymorphismus. Sollte diese Assoziation von Phenytoin- und Debrisoquinmetabolismus zutreffen, wäre die Kenntnis des Phänotyps angesichts der geringen therapeutischen Breite von Phenytoin vor Beginn einer Therapie zur Vermeidung schwerer Intoxikationen ein wichtiger Vorteil.

1.2 Pharmakogenetik des Debrisoquinstoffwechsels

Debrisoquin (Declinax®, Hoffmann-La Roche) ist ein seit 1966 in Großbritannien, der Schweiz und einigen anderen Ländern im Handel befindliches Antihypertensivum vom Guanethidin-Typ. Das Präparat fand jedoch keine weite Anerkennung, da die zur Therapie erforderlichen Dosen um den Faktor 40 schwankten. Bei einem Teil der Patienten kommt es bei der Ersteinstellung zu orthostatischer Dysregulation oder übermäßiger Blutdrucksenkung. Es wird deshalb empfohlen, Debrisoquin bei Therapiebeginn nur einschleichend zu dosieren. Die unterschiedliche Reaktionsweise auf Debrisoquin ist sowohl für normotensive Probanden als auch für Hypertoniker beschrieben. Angelo et al. (5) fanden bei 10 Probanden Wiederfindungsquoten zwischen 8 und 58 % an Debrisoquin im Urin. Idle et al. (18) bewiesen durch Untersuchungen mit ^{14}C markiertem Debrisoquin die Vollständigkeit und Konstanz der Resorption, so daß interindividuelle Unterschiede im Stoffwechsel von Debrisoquin für die Variationsbreite der Wirkung von gleichen Dosen verantwortlich sein müßten.

Hauptmetabolit des Debrisoquins ist das 4-OH-Debrisoquin (Abb. 2). 5-OH-, 6-OH-, 7-OH- und 8-OH-Debrisoquin spielen quantitativ nur eine untergeordnete Rolle (18). Idle und Smith untersuchten 1977 zunächst an 94, später an 258 gesunden Probanden den Stoffwechsel von Debrisoquin (19, 38). Nach einmaliger Gabe von 10 mg Debrisoquin oral wurden die innerhalb von 8 h renal eliminierten Mengen an unverändertem Debrisoquin sowie 4-OH-Debrisoquin gemessen. Bei den Analysen fiel auf, daß in einigen Urinproben nur extrem kleine Mengen an 4-OH-Debrisoquin nachweisbar waren. Bei jedem Probanden wurde als Maß für den Umfang der 4-Hydroxilierung der Metabolisierungsquotient (Quotient von ausgeschiedenem Debrisoquin und 4-OH-Debrisoquin) berechnet. Das Histogramm zeigt nach Logarithmieren eine eindeutig zweigipflige Verteilung.

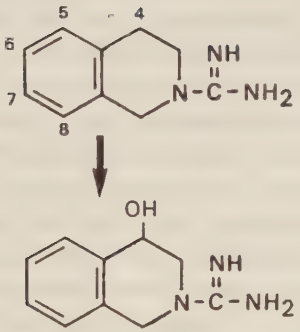


Abb. 2: Hauptabbauweg von Debrisoquin, der zur Bestimmung des Hydroxilierer-Phänotyps dient

Die Autoren dieser englischen Studie ermittelten einen Metabolisierungsquotienten von 12,6 als Grenzpunkt zwischen den beiden Häufigkeitsgipfeln. Die Häufigkeit des Phänotyps schneller Metabolisierer (Metabolisierungsquotient < 12,6) betrug 91,1 %, die des Phänotyps langsamer Metabolisierer (Metabolisierungsquotient > 12,6) 8,9 % in der gesunden englischen Bevölkerung.

Familienuntersuchungen zeigten, daß die Eigenschaft, Debrisoquin schnell bzw. langsam zu verstoffwechseln, erblich ist. Price-Evans et al. postulierten 1980 einen autosomal rezessiven Erbgang für den Debrisoquin-Hypometabolismus (38). Die Dominanz des Allels, das für den schnellen Abbau verantwortlich ist, scheint jedoch nicht vollständig zu sein. Personen, die durch Familienuntersuchungen positiv als Heterozygote erkannt worden sind, zeichnen sich innerhalb der Gruppe der phänotypisch schnellen Metabolisierer durch im Trend höhere Metabolisierungsquotienten aus als der Durchschnitt der phänotypisch schnellen Metabolisierer (der Metabolisierungsquotient war bei jedem der als heterozygot bekannten Probanden größer

als 1,0). Die Teildominanz des Allels "langsam" kommt ebenfalls dadurch zum Ausdruck, daß Woolhouse et al. (55) bei der Untersuchung des Debrisoquinstoffwechsels an Ghanesen eine dreigipflige Verteilung der Metabolisierungsquotienten fanden. Zu diskutieren wäre, ob hier die Teildominanz des Allels "langsam" durch andere interethnische pharmakogenetische Unterschiede sich verstärkt ausdrückt. Die Häufigkeit von langsamen bzw. schnellen Metabolisierern von Debrisoquin innerhalb einer Population schwankt zwischen verschiedenen ethnischen Gruppen erheblich. Die in Großbritannien gefundene Häufigkeit von 8,9 % scheint nur in Mitteleuropa gültig zu sein, siehe Tab. 1.

Tab. 1: Anteil der langsamen Metabolisierer von Debrisoquin in verschiedenen Populationen; Häufigkeit und 95-%-Vertrauensbereich

Land	n	% langsame Metabolisierer	Autor
Saudi-Arabien	102	1,0 (0 - 5,3)	Islam et al. (22)
Ägypten	72	1,4 (0 - 7,5)	Mahgoub et al. (32)
Indien	147	2,0 (0,4- 5,7)	zitiert nach (20)
Irak	260	3,5 (1,6- 6,6)	Al-Dabbagh et al. (1)
Schweden	155	3,9 (1,4- 8,3)	Alvan et al. (2)
Ghana	80	6,3 (2,1-14,0)	Woolhouse et al. (55)
Nigeria	123	8,1 (4,0-13,8)	Mbanefo et al. (34)
Großbritannien	258	8,9 (5,7-12,7)	Price-Evans et al. (38)
Schweiz	222	9,9 (6,0-14,0)	Dick et al. (12)
Ostasien*	19	31,6 (12,6-56,6)	Inaba et al. (21)

* Einwanderer nach Kanada, überwiegend chinesischer Herkunft

Zur Klärung der Frage, ob es sich bei dem Debrisoquin-Hypometabolismus um eine fehlende Enzymaktivität in der Leber handelt, führten verschiedene Autoren (9, 14, 15, 35) In-vitro-Untersuchungen durch. Aus Leberbiopsieproben wurde die Mikrosomenfraktion gewonnen und als reaktionsfähiges Gemisch mit Debrisoquin inkubiert. Der Vergleich des In-vivo- und In-vitro-Stoffwechsels zeigt, daß die Leberproben der schnellen Metabolisierer in der Lage waren, 4-OH-Debrisoquin zu bilden. In den Inkubaten mit Lebermikrosomen von langsamen Metabolisierern lassen sich jedoch nur Spuren oder überhaupt kein 4-OH-Debrisoquin nachweisen. Der Gesamtgehalt der Proben von langsamen Metabolisierern an mikrosomalem Cytochrom P-450 ist gegenüber den anderen Proben jedoch nicht verringert. Wie seit längerem bekannt ist, handelt es sich bei dem Cytochrom-P-450-System nicht um ein einheitliches Enzym, sondern um eine Gruppe von Isoenzymen, die sich unter anderem durch das Molekulargewicht und ihre Substratspezifität unterscheiden. Die Induzier- und Hemmbarkeit durch die verschiedenen Enzyminduktoren bzw. Hemmstoffe differieren. Im Fall des Debrisoquin-Polymorphismus liegt deshalb die Annahme nahe, daß hier ein bestimmtes Isoenzym des Cytochrom-P-450-Systems fehlt, funktionell vollständig ineffektiv ist oder seine Substrataffinität geändert hat. Bei chromatographischen Auftrennungen des Cytochrom P-450 weiblicher DA-Ratten, die einen Debrisoquin-Hypometabolismus aufweisen, fehlte jedoch eine Enzym-Fraktion, die sich bei Debrisoquin schnell verstoffwechselnden Rattenstämmen nachweisen läßt (28). Distlerath et al. (14) gelang es, mit Hilfe von spezifischen Antikörpern gegen das Debrisoquin-hydroxilierende Isoenzym von Cytochrom P-450 in vitro den Umsatz bestimmter Substrate zu hemmen. Diese Ergebnisse konnten auch bei Verwendung menschlicher Mikrosomen bestätigt werden (15).

Da es sich auch bei dem Debrisoquin-Polymorphismus des Menschen offensichtlich um den selektiven Ausfall eines bestimmten Cytochrom-P-450-Isoenzyms handelt, lag die Vermutung nahe, daß es andere Pharmaka gibt, deren Abbau ebenfalls überwiegend durch das betreffende Isoenzym katalysiert wird. In der Tat konnten zahlreiche Stoffe gefunden werden, die in ihrem Abbau dem gleichen Polymorphismus unterliegen wie Debisoquin, siehe Tab. 2.

Tab. 2: Stoffe, deren Metabolismus ganz oder teilweise der gleichen Kontrolle unterliegen wie die 4-Hydroxilierung von Debrisoquin

Substanz	Metabolische Reaktion	Ref.
Guanoxan	aromatische Hydroxilierung	48
Spartein	N-Oxidation	6
Phenacetin*	O-Deethylierung	11
β-Receptoren-Blocker	Hydroxilierung bzw. Dealkylierung	
Metoprolol		30
Bufuralol		10
Alprenolol		2
Propranolol		39
Timolol		2
Nortriptylin	aliphatische Hydroxilierung	36
Desimipramin	2-Hydroxilierung	7
Phenformin	p-Hydroxilierung	45
Encainide	O-Demethylierung	56
Perhexilin	aliphatische Hydroxilierung	44
4-Methoxy-Amphetamin	O-Demethylierung	24
Carboxymethylcystein*	Sulphoxidation	53
Dextromethorphan	O-Demethylierung	43

* Für diese beiden Stoffe liegt divergierende Literatur vor. Einige Autoren postulieren einen jeweils eigenständigen Polymorphismus (14, 37).

Langsame Metabolisierer erleiden gehäuft unerwünschte Wirkungen bei einer Therapie mit diesen Medikamenten (40). Sie sind in erster Linie durch die erhöhten Blutspiegel (z. B. Perhexilin) sowie durch das verstärkte Anfallen von toxischen Metaboliten eines alternativen Stoffwechsels bedingt (z. B. Phenacetin). Im Falle des Encainids kommt ein anderer Mechanismus zum Tragen: Nur der durch O-Demethylierung entstehende Metabolit ist pharmakodynamisch aktiv. Dieser Metabolit kann jedoch von den langsamen Metabolisierern nicht gebildet werden, so daß eine antiarrhythmische Wirkung hier ausbleibt.

1.3 Fragestellung

Auf Grund der von Sloan et al. (46) vermuteten Assoziation von Debrisoquin- und Phenytoinstoffwechsel lag es nahe, den Versuch zu unternehmen, Epileptiker mit einer Phenytoin-Langzeitmedikation mit Debrisoquin zu phänotypisieren und die klinischen Auswirkungen der unterschiedlichen Metabolisierungsgeschwindigkeit zu untersuchen. Mit der vorliegenden Studie sollten folgende Fragen geklärt werden:

1. Ergibt sich bei epileptischen Patienten mit einer Phenytoin-Therapie eine bimodale Verteilung des Metabolisierungsquotienten, die eine Unterscheidung in langsame und schnelle Metabolisierer von Debrisoquin ermöglicht?

2. Tritt bei den langsamen Metabolisierern von Debrisoquin ein geringerer Dosisbedarf pro kg Körpergewicht an Phenytoin, der zur Erzielung eines vergleichbaren Serumspiegels führt, überdurchschnittlich häufig auf?

3. Unterscheidet sich das Kollektiv mit Phenytoin-Monotherapie von jenen Patienten, die zusätzlich mit weiteren Antiepileptika behandelt werden, bezüglich des Debrisoquin-Testes?

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Auswahl des Kollektivs

Für die Teilnahme an der pharmakogenetischen Typisierung mit Debrisoquin wurden folgende Ein- und Ausschlußkriterien festgelegt:

Einschlußkriterien:

- Orale Phenytoin-Langzeittherapie im steady-state, deren Indikation das Auftreten epileptischer Anfälle ist, unabhängig von Genese und Anfallstyp
- Männer und Frauen, sowohl in stationärer als auch in ambulanter Behandlung
- Lebensalter von 18 - 64 Jahren
- Deutschstämmigkeit
- Einsichts- und Geschäftsfähigkeit

Ausschlußkriterien:

- Niereninsuffizienz (Kreatininclearance < 70 ml/min)
- Histologisch gesicherte Lebercirrhose
- Koronare Insuffizienz
- Medikamentös behandelter arterieller Hochdruck
- Orthostatische Dysregulation
- Behandlung innerhalb der letzten 10 Tage mit trizyclischen Antidepressiva, Ephedrin, Amphetaminen, Appetitzüglern, MAO-Inhibitoren, L-Dopa, Chinidin, Spartein, Propranolol, Timolol, Alprenolol, Metoprolol, Bufuralol, Phenacetin, Dextromethorphan sowie Carboxymethylcystein
- Schwangerschaft oder Stillperiode
- Schwerwiegende Zweiterkrankung mit schlechtem Allgemeinzustand

2.2 Demographische und klinische Daten der untersuchten Epileptiker

87 Patienten, davon 57 Männer (≙ 65,5 %) und 30 Frauen (≙ 34,5 %), die die Auswahlkriterien erfüllten, erklärten sich bereit, an der Untersuchung teilzunehmen. Circa 20 % der um Teilnahme gebetenen Patienten lehnten die Untersuchung ab.

33 Patienten (≙ 37,9 %) erhielten zusätzlich zum Phenytoin eine weitere antiepileptische Medikation mit Primidon, Phenobarbital, Carbamazepin, Clonazepam, Ethosuximid oder Valproinsäure. Die Untersuchung wurde in 20 Fällen (≙ 23 %) ambulant, in allen anderen Fällen während eines stationären Aufenthalts durchgeführt.

20 Patienten (≙ 23,0 %) erhielten weitere Medikamente mit anderer Indikation. Es wurde darauf geachtet, daß die Patienten keine Medikamente zu sich nahmen, die dem Polymorphismus vom Typ des Debrisoquins unterliegen oder die im Verdacht stehen, den Debrisoquin-Metabolismus zu hemmen (z. B. Chinidin). Eine Liste aller eingenommenen Medikamente findet sich im Anhang.

Die Altersverteilung innerhalb der durch die Ausschlußkriterien gesetzten Grenzen ist annähernd homogen (Abb. 3). Dies gilt sowohl für Frauen als auch für Männer. Der Median des Alters liegt bei 39 Jahren.

In 6 Fällen konnte eine zum Teil längere Zeit zurückliegende Alkoholanamnese erhoben werden. Klinische Zeichen einer Einschränkung der Leberleistung oder eine histologisch gesicherte Cirrhose lagen jedoch in keinem Fall vor.

Zur Phenytoin-Medikation wurden Zentropil®, Phenhydan® als Tabletten sowie in einem Fall Epanutin®-Suspension verwendet. Die am häufigsten verordnete Dosis betrug 300 mg/die.

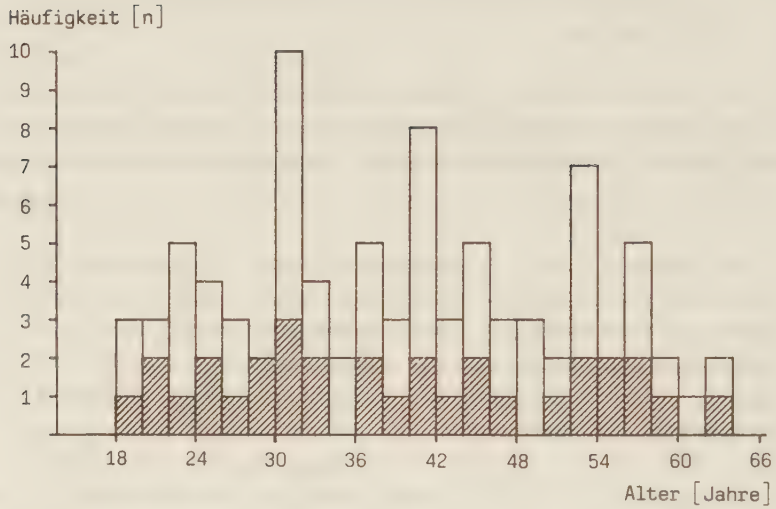


Abb. 3: Altersverteilung der 87 phänotypisierten Epileptiker mit Phenytoin-Therapie, Frauen schraffiert dargestellt.

2.3 Versuchsdurchführung

Die Patienten wurden vor Testbeginn über Wesen, Bedeutung und Tragweite sowohl schriftlich als auch mündlich aufgeklärt. Die Zustimmung des Ethischen Komitees im Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin lag vor. Die Untersuchung wurde in der Reihenfolge der tatsächlichen Verfügbarkeit vorgenommen.

2.3.1 Pharmakogenetische Typisierung mit Debrisoquin

Die Patienten erhielten nach dem Körpergewicht gestaffelt Debrisoquin-Hemisulfat oral in Form von Tabletten, ggf. zerteilt, des Prüfpräparats Ro 5-3307/606

≦ 55 kg: 5,0 mg Debrisoquin (≙ 6,4 mg D.-Hemisulfat)
> 55 ≦ 80 kg: 7,5 mg Debrisoquin (≙ 9,6 mg D.-Hemisulfat)
> 80 kg: 10,0 mg Debrisoquin (≙ 12,8 mg D.-Hemisulfat)

Die Urinsammelperiode umfaßte die ersten 5 Stunden nach der Gabe der Testtablette. Wie eigene Vorversuche zeigten, bleibt eine Verkürzung der von anderen Autoren verwendeten 8stündigen Sammelperiode ohne Einfluß auf den Metabolisierungsquotienten. Bereits nach Ablauf von ca. 2 Stunden hat der Metabolisierungsquotient seinen endgültigen Wert erreicht. Ein Beispiel des Verlaufs der Debrisoquin- und 4-OH-Debrisoquinausscheidung sowie des Metabolisierungsquotienten zeigen Abb. 4 bzw. Abb. 5.

Die Patienten wurden vor Testbeginn aufgefordert, ihre Blase zu entleeren und diesen Urin zu verwerfen. Um eine Resorptionsbeeinflussung der Testdosis zu vermeiden, wurde die Untersuchung frühestens 1 Stunde nach der letzten Nahrungsaufnahme durchgeführt. Die Patienten wurden gebeten, die Debrisoquin-Tablette mit Flüssigkeit zu schlucken und anschließend während 1 Stunde keine Nahrung zu sich zu nehmen. Für die restliche Sammelperiode wurde mit Ausnahme einer Alkoholkarenz keine Diät vorgeschrieben. Mit Ablauf der Sammelperiode wurden die Patienten aufgefordert, die Blase vollständig zu entleeren. Nach Bestimmung des Gesamtvolumens des Sammelurins wurden mehrere Proben entnommen und bis zur Analyse bei -20 °C aufbewahrt.

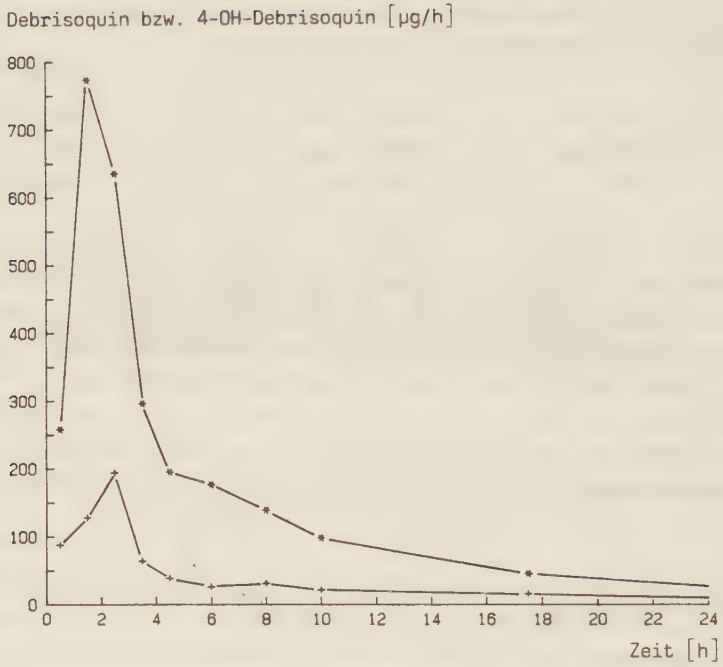


Abb. 4: Renale Ausscheidung von Debrisoquin (+) und 4-OH-Debrisoquin (*) bei Proband A nach oraler Gabe von 10 mg Debrisoquin. Die angegebenen Ausscheidungsgeschwindigkeiten sind jeweils der Mitte des Sammelintervalls zugeordnet.

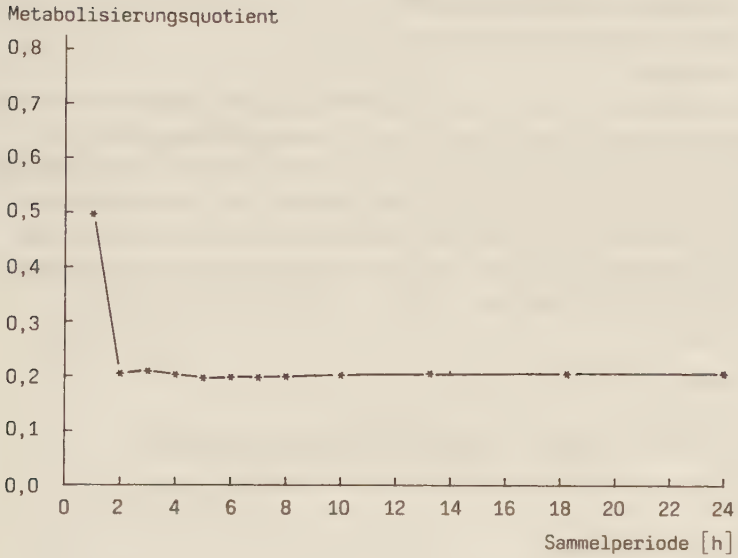


Abb. 5: Verlauf des Metabolisierungsquotienten nach oraler Gabe von 10 mg Debrisoquin an Proband B bei 1- bis 24stündiger Sammelperiode (kumulativ).

2.3.2 Laborklinische Untersuchungen

Während des Tests erfolgte eine venöse Blutentnahme zur Bestimmung der folgenden Parameter:

- Aspartataminotransferase (GOT)
- Alaninaminotransferase (GPT)
- alkalische Phosphatase (AP)
- Gamma-Glutamyltransferase (γ-GT)
- Kreatinin

Die Bestimmung von GOT, GPT und AP diente zum laborchemischen Ausschluß einer Leber- oder Gallenwegserkrankung, die die Wertung einer erhöhten γ-GT als Zeichen einer Enzyminduktion hätte beeinträchtigen können. Das Kreatinin wurde zum Ausschluß einer klinisch stummen Niereninsuffizienz bestimmt. Die endogene Kreatininclearance (Cl_{Kr}) wurde nach Cockcroft und Gault (8) geschätzt:

Männliche Patienten:

$$Cl_{Kr} = \frac{(140 - \text{Alter [Jahre]}) \cdot \text{Körpergewicht [kg]}}{72 \cdot \text{Kreatinin i.S. [mg/dl]}}$$

Weibliche Patienten:

$$Cl_{Kr} = \frac{(140 - \text{Alter [Jahre]}) \cdot \text{Körpergewicht [kg]}}{84{,}7 \cdot \text{Kreatinin i.S. [mg/dl]}}$$

Die Messungen wurden im Zentrallabor des Klinikum Steglitz mit den für die klinische Routine üblichen Methoden vorgenommen. Bei stationären Patienten wurde auf eine erneute Bestimmung von GOT, GPT, AP, γ-GT bzw. Kreatinin verzichtet, wenn eine entsprechende Bestimmung innerhalb der letzten 6 Tagen bereits durchgeführt wurde.

2.3.3 D-Glukarsäure-Ausscheidung

Zur Objektivierung einer Enzyminduktion wurde die D-Glukarsäure im 5-h-Sammelurin bestimmt. Die Messung erfolgte durch die Bewertung der Hemmung einer ß-Glucuronidase-Reaktion bei saurem pH. Es wurde entsprechend der Methode von Marsh (33) mit den Modifikationen von Roots (41) verfahren.

2.3.4 Phenytoin-Serumspiegel

Bei allen Patienten wurde der aktuelle Phenytoin-Spiegel im Serum bestimmt. Die Messungen wurden mit Hilfe eines Fluoreszenspolarisations-Immunoassay im Institut für Klinische Pharmakologie der Freien Universität Berlin vorgenommen (TDX, Abott). Der Variationskoeffizient des verwendeten Assays beträgt 1,75 % bei einer Serumkonzentration von 15 µg/ml.

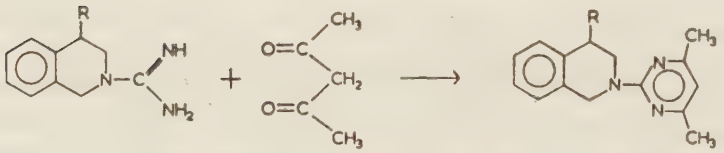
2.4 Nachweismethode für Debrisoquin und 4-OH-Debrisoquin

2.4.1 Reagentien

Debrisoquin-Hemisulfat (3,4-Dihydro-2(1H)-isochinolincarboxamidin-Hemisulfat, MG 224,3) und 4-OH-Debrisoquin-Hemisulfat (3,4-Dihydro-4-hydroxy-2-(1H)-isochinolincarboxamidin-Hemisulfat, MG 240,3) als Reinsubstanzen (Hoffmann-La Roche); Acetylaceton, Methanol, Diethylether, Natriumhydrogencarbonat, HCl, NaOH jeweils von analytischem Reinheitsgrad (Merck); Bupivacain (Astra Chemicals).

2.4.2 Derivatisierung

Die Nachweismethoden von Erdtmansky et al. (17) und Lennard et al. (29) wurden modifiziert. Es wurde wie folgt vorgegangen:
Debrisoquin sowie sein 4-OH-Metabolit werden an ihrer Guanidino-Gruppe durch Kondensation mit Acetylaceton zu Pyrimidinen derivatisiert (Abb. 6), um später in einem gemeinsamen Chromatogramm nachgewiesen werden zu können. Nach dem Auftauen der Proben werden jeweils 2 ml des zu untersuchenden Urins mit 1 ml Methanol, 1 ml Acetylaceton, 1 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 200 µl einer methanolischen Lösung, die Bupivacain als internen Standard in einer Konzentration von 100 µg/ml enthält, in ein 25-ml-Reagenzglas mit Schliffstopfen pipettiert. Nach dem Verschließen der Reagenzgläser werden die Proben über Nacht in einem 50 °C warmen Wasserbad inkubiert.



Debrisoquin: R = H
4-OH-Debrisoquin : R = OH

Abb. 6: Derivatisierung von Debrisoquin und 4-OH-Debrisoquin zu Pyrimidinen für die Gaschromatographie

2.4.3 Extraktionsverfahren

Nach erfolgter Inkubation werden bei Raumtemperatur jeweils 10 ml Diethylether hinzugefügt und anschließend für 5 Minuten geschüttelt. Die wässerige Phase wird abgetrennt und verworfen. Zu der verbleibenden organischen Phase werden 650 µl 4N HCl hinzugefügt. Nach erneutem 5minütigen Schütteln wird die überstehende organische Phase abgetrennt und verworfen. Die Proben werden mit 910 µl 4N NaOH sowie 10 ml Diethylether versetzt und anschließend erneut für 5 Minuten geschüttelt. Die überstehende Diethyletherphase wird abgehoben und bei Unterdruck verdampft (Rotavapor, Büchi). Die eingedampften Proben werden mit 100 µl Methanol aufgenommen.

2.4.4 Meßvorgang

Für den Nachweis von Debrisoquin und seinem 4-OH-Metaboliten wurde ein Hewlett-Packard Gaschromatograph Modell 5830A verwendet, der mit einem stickstoffselektiven Flammen-Ionisations-Detektor ausgerüstet ist. Im Gegensatz zu anderen Autoren (12, 17, 19, 29, 31, 38) wird keine gepackte Säule, sondern eine Fused-Silica-Kapillarsäule (OV-101, Machery & Nagel) benutzt. Zur Gewährleistung einer gleichmäßigen Verwirbelung der Probe wird die Injektorblock-Temperatur sehr hoch gewählt: 340 °C. Das injizierte Volumen beträgt 1 µl. Die Temperatur des Detektors wird auf 300 °C justiert. Die Messungen erfolgen isotherm bei einer Ofentemperatur von 220 °C. Der Trägergasfluß (Helium) wird am Splitter so eingestellt, daß das Lösungsmittel die Säule innerhalb von ca. einer Minute passiert. Bei der beschriebenen Einstellung der Meßanordnung ergibt sich eine Meßzeit von ca. 3 Minuten pro Chromatogramm. Die Retentionszeiten betragen 1,3 min für Debrisoquin, 1,8 min für 4-OH-Debrisoquin sowie 2,4 min für Bupivacain. Typische Chromatogramme eines schnellen Metabolisierers sowie eines langsamen Metabolisierers zeigt Abb. 7.

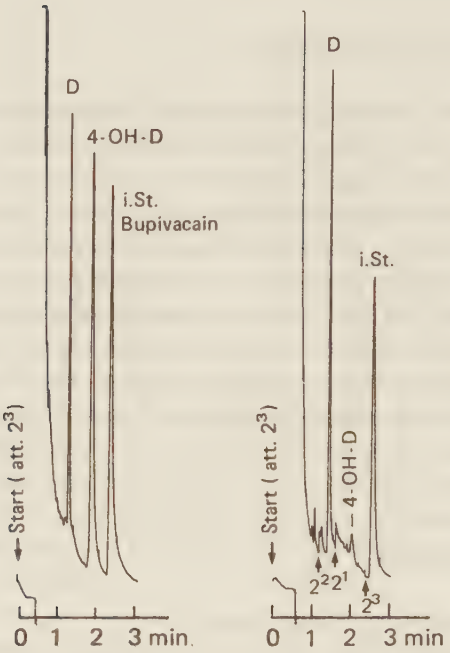


Abb. 7: Gaschromatographische Trennung von Debrisoquin und 4-OH-Debrisoquin auf einer Fused-Silica-Kapillarsäule OV-101 mit N-selektiver Detektion. Links: Schneller Metabolisierer; Rechts: Langsamer Metaboliserer

2.4.5 Eichreihe

Aus einer methanolischen Stammlösung von je 50 µg/ml Debrisoquin-Hemisulfat und 4-OH-Debrisoquin-Hemisulfat werden 10, 20, 40, 100 und 200 µl in ein Reagenzglas pipettiert, eingedampft und anschließend mit jeweils 2 ml Leerurin versetzt (entstehende Konzentrationen: 0,25, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0 µg/ml). Derivatisierung, Extraktion und Meßvorgang werden zeitgleich zu den Proben vorgenommen. Die mathematische Auswertung er-

folgt generell durch Bestimmung der Peakhöhen, da eine Auswertung über die Fläche mittels automatischer Integration zu nur mangelhaften Ergebnissen in Vorversuchen führte. Es ergibt sich sowohl für Debrisoquin als auch für 4-OH-Debrisoquin eine lineare Eichkurve, die den Nullpunkt schneidet. Die entsprechenden Geradengleichungen werden bestimmt. Eine typische Eichreihe für Debrisoquin und 4-OH-Debrisoquin zeigt die Abb. 8.

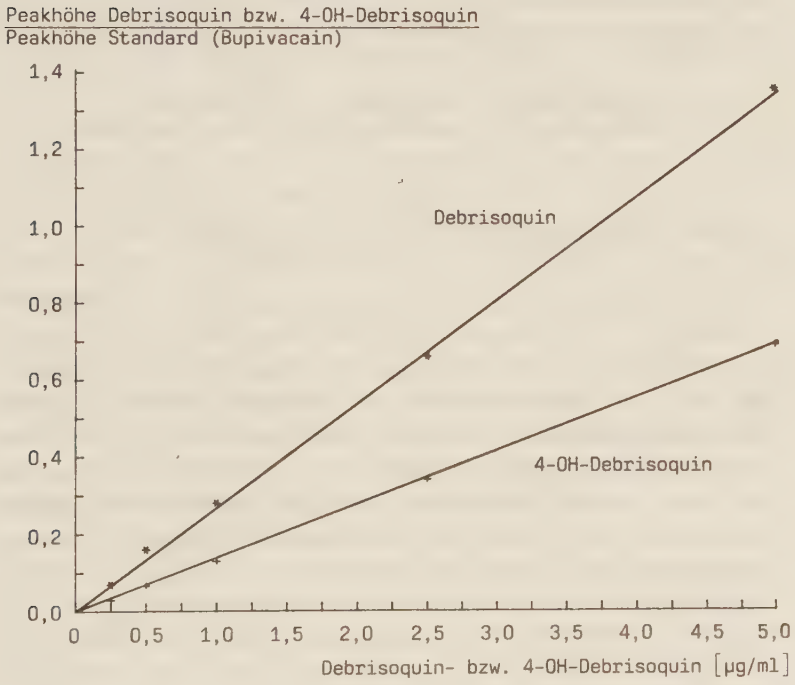


Abb. 8: Typische Eichreihe für Debrisoquin und 4-OH-Debrisoquin. Die lineare Korrelation beträgt r = 0,9996 (Debrisoquin) bzw. 0,9999 (4-OH-Debrisoquin).

2.4.6 Berechnung des Metabolisierungsquotienten

Es wird der Quotient für Debrisoquin und 4-OH-Debrisoquin mit dem internen Standard des jeweiligen Chromatogramms bestimmt und in die errechneten Geradengleichungen eingesetzt. Die Menge an Debrisoquin- bzw. 4-OH-Debrisoquin-Hemisulfat je Probe wird um den Sulfatanteil in der Stammlösung korrigiert (Debrisoquin: Faktor 0,782; 4-OH-Debrisoquin: Faktor 0,796). Um die Genauigkeit zu erhöhen, werden 3 Chromatogramme pro Patient angefertigt und ausgewertet. Eine Mittelung der Meßwerte wird vorgenommen. Anhand des Volumens des jeweiligen Sammelurins wird die Ausscheidung von Debrisoquin und 4-OH-Debrisoquin in der 5stündigen Sammelperiode bestimmt. Der Metabolisierungsquotient (MQ) wird berechnet:

$$MQ = \frac{\text{Ausscheidung an Debrisoquin in 5 Stunden}}{\text{Ausscheidung an 4-OH-Debrisoquin in 5 Stunden}}$$

2.4.7 Zuverlässigkeit der Nachweismethode

Der Variationskoeffizient einer durchgeführten Vielfachbestimmung (n = 12) betrug 7,5 % für Debrisoquin sowie 4,2 % für 4-OH-Debrisoquin bei einer Konzentration von 2 µg/ml. Der empirisch ermittelte Variationskoeffizient der Metabolisierungsquotienten der Einzelmessungen betrug 4,4 %. Da 3 chromatographische Bestimmungen pro Patient durchgeführt und deren Ergebnisse gemittelt wurden, kann der Variationskoeffizient ($VK_{\varnothing}$) der sich nach dieser Mittelung ergebenen Werte nach der Formel (13)

$$VK_{\varnothing} = VK \sqrt{\frac{2}{n}}$$

geschätzt werden. Es ergibt sich ein Variationskoeffizient $VK_{\varnothing}$ von 5,3 % für Debrisoquin sowie 3,1 % für 4-OH-Debriso-

quin. Der Variationskoeffizient $VK_{\varnothing}$ der Mittelungen des Metabolisierungsquotienten kann auf 3,2 % geschätzt werden.

2.5 Statistische Berechnungen

Berechnet wird der Median, das arithmetische Mittel, die Standardabweichung (S.D.) sowie der Variationskoeffizient (VK).

Zusätzlich zum Gesamtkollektiv erfolgt die Auswertung von Teilkollektiven, die durch den Metabolisierungsquotienten, das Geschlecht, das Vorliegen einer Mono- oder Kombinationstherapie sowie Kombinationen dieser Merkmale definiert werden.

Die Prüfung auf signifikante Unterschiede der erfaßten bzw. berechneten Merkmale der verschiedenen Teilkollektive erfolgte mit dem Wilcoxon-Test für unpaare Stichproben (13). Als Signifikanzgrenze wurde $2p = 0{,}05$ festgelegt. Bei Vierfeldertafeln wurde die exakte Wahrscheinlichkeit nach Fisher (16) berechnet.

Durch die Berechnung von Korrelationskoeffizienten wurde versucht, eine mögliche Korrelation der Parameter untereinander aufzuzeigen. Berechnet wurde der lineare Korrelationskoeffizient r nach dem Prinzip der kleinsten Quadrate sowie der Korrelationskoeffizient R nach Spearman (13).

Verteilungsfunktionen wurden, soweit eine Normalverteilung unterstellt werden konnte, mit der Gaußschen Näherungsformel beschrieben (13). Der Schnittpunkt zweier solcher Verteilungsfunktionen stellt den Ort gleicher Wahrscheinlichkeit dar. Der unterschiedlichen Größe beider Populationen wurde

Rechnung getragen (Faktor a). Aus der Gleichung für den Schnittpunkt

$$\frac{1}{\sigma_1 (2\pi)^{-2}} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x - M_1}{\sigma_1}\right)^2} = a \frac{1}{\sigma_s (2\pi)^{-2}} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x - M_s}{\sigma_s}\right)^2}$$

wurde folgende Formel hergeleitet:

$$x_{1,2} = \frac{\sigma_1^2 M_s - \sigma_s^2 M_1}{\sigma_1^2 - \sigma_s^2} \pm \sqrt{\left(\frac{\sigma_s^2 M_1 - \sigma_1^2 M_s}{\sigma_1^2 - \sigma_s^2}\right)^2 - \frac{\sigma_1^2 M_s - \sigma_s^2 M_1 - (\sigma_1^2 \sigma_s^2 4 \ln a \frac{\sigma_1}{\sigma_s})}{\sigma_1^2 - \sigma_s^2}}$$

$\sigma_{1,s}$ = Standardabweichung der Log MQ-Werte der langsamen bzw. schnellen Metabolisierer

$M_{1,s}$ = Arithmetischer Mittelwert der Log MQ-Werte der langsamen bzw. schnellen Metabolisierer

$x_{1,2}$ = Log MQ

$a = \frac{N \text{ (schnelle Metabolisierer)}}{N \text{ (langsame Metabolisierer)}}$

Der x-Wert, der größer als M_s und kleiner als M_1 ist, gibt eine Schätzung des Trennwertes (Antimode) von zwei normalverteilten Populationen.

Alle statistischen Berechnungen wurden mit einem Hewlett-Packard 97 Microcomputer vorgenommen. Mit Ausnahme des Wilcoxon-Testes, des Fisher-Testes und der Korrelation nach Spearman (eigene Programme) wurde ein Software-Paket (BSDM) der Firma Hewlett-Packard benutzt.

3 ERGEBNISSE

3.1 Metabolisierungsquotient von Debrisoquin

3.1.1 Verteilung des Metabolisierungsquotienten

Bei allen 87 Patienten konnte der Metabolisierungsquotient (MQ) berechnet werden. Es zeigte sich, daß der Metabolisierungsquotient auch bei Epileptikern mit einer Phenytoin-Langzeitmedikation extremen Schwankungen unterworfen ist (VK = 367 %), siehe Abb. 9. Kleinster und größter MQ-Wert unterscheiden sich voneinander um einen Faktor von ca. 4000. Der Median der MQ-Werte (0,40) und das arithmetische Mittel (5,8) weichen stark voneinander ab.

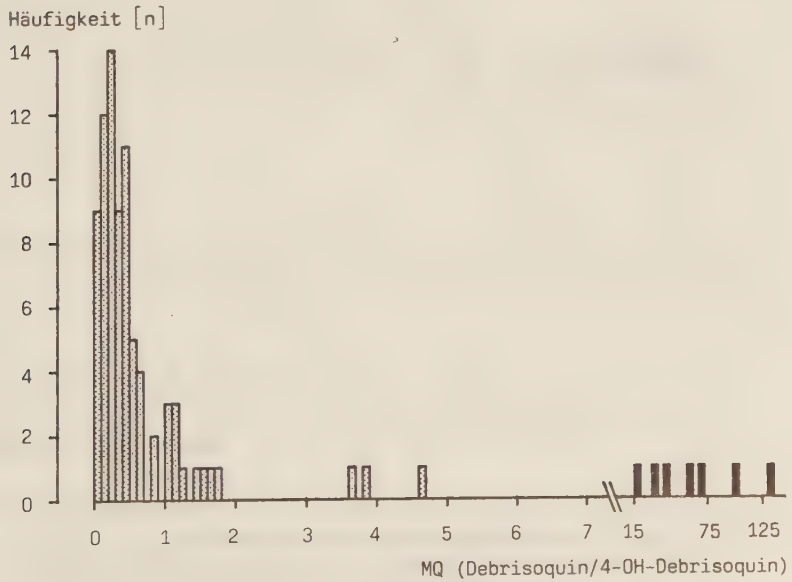


Abb. 9: Verteilung des Metabolisierungsquotienten (MQ) von Debrisoquin bei 87 epileptischen Patienten mit Phenytoin-Therapie. Schwarze Säulen: Patienten mit MQ > 12,6

In der durchgeführten Probit-Analyse (Abb. 10) zeigt der Bruch in der Probit-Geraden, daß es sich nicht um eine einseitig weit streuende Verteilung, sondern um unterschiedliche Populationen handelt.

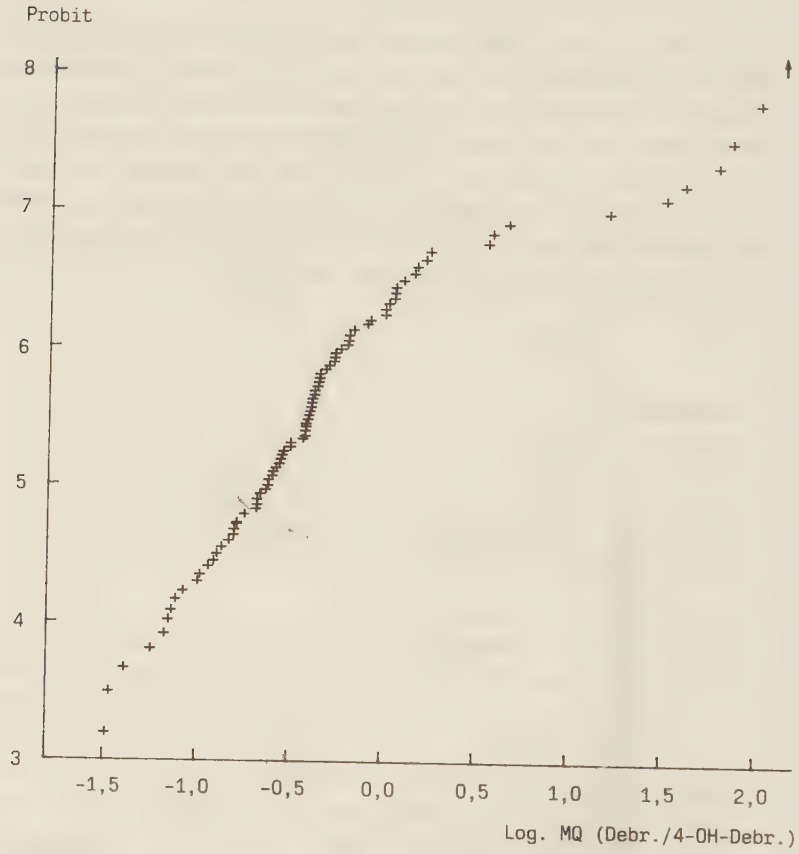


Abb. 10: Probit-Analyse der Verteilung des Metabolisierungsquotienten im Debrisoquin-Test bei 87 Epileptikern mit Phenytoin-Therapie. ↑ = Lokalisation des 100-%-Werts (Log. 131 = 2,11).

Eine logarithmische Transformierung des Metabolisierungsquotienten führt zu einer bimodalen, vermutlich zweifach normalen Verteilung (Abb. 11).

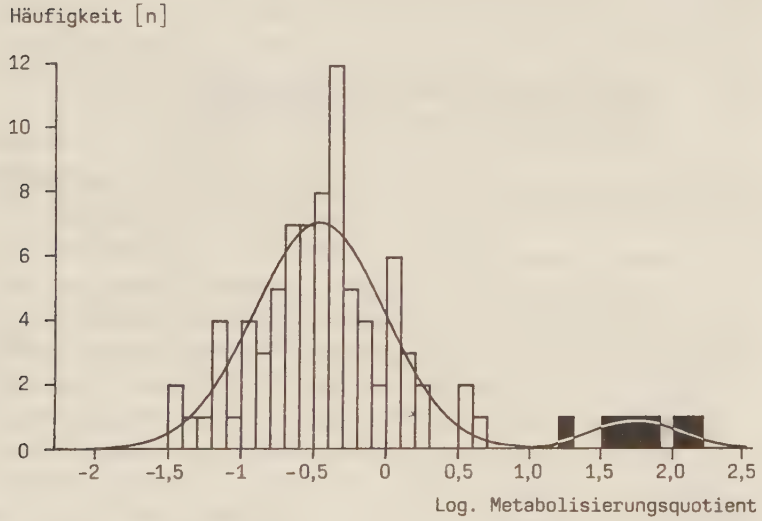


Abb. 11: Häufigkeitsverteilung des logarithmierten Metabolisierungsquotienten bei epileptischen Patienten mit Phenytoin-Therapie. Darstellung der langsamen Metabolisierer durch geschwärzte Säulen.

3.1.2 Bestimmung des Hydroxilierer-Phänotyps

Die eindeutig zweigipflige Verteilung der logarithmierten MQ-Werte (Abb. 11) läßt eine sichere Identifizierung der langsamen Metabolisierer von Debrisoquin zu: Nach einer Lücke in den logarithmierten MQ-Werten zwischen 0,7 (≙ MQ = 5) und 1,2 (≙ MQ = 16) kommt es zu einem erneuten Anstieg der Häufigkeit.

Von den 87 Probanden konnten 7 (≙ 8,0 %) als langsame Metabolisierer erkannt werden. Die MQ-Werte der langsamen Metabolisierer betrugen 16,3, 32,7, 41,2, 62,1, 73,3, 103 sowie 131. Der Median des Metabolisierungsquotienten der schnellen Metabolisierer liegt bei 0,38 (arithm. MW = 0,59), jener der langsamen Metabolisierer bei 62,1 (arithm. MW = 65,6).

3.1.3 Abschätzung des exakten Trennwertes für die Bestimmung des Hydroxilierer-Phänotyps

Bei der Anwendung des Debrisoquin-Testes wird in der Regel der von Price-Evans et al. (38) vorgeschlagene Trennwert von 12,6 zugrunde gelegt. Dieser Trennwert fand jedoch bislang nur an nichtinduzierten, gesunden Probanden Anwendung. Da die vorliegende Untersuchung während einer antiepileptischen Langzeittherapie durchgeführt wurde, war die Möglichkeit gegeben, daß induktive oder hemmende Einflüsse eine andere Festsetzung des Trennwerts erforderlich machen. Die nach Augenschein im Histogramm der logarithmierten Metabolisierungsquotienten vorgenommene Einteilung, die mit dem in der Literatur beschriebenen Trennwert von 12,6 in Einklang steht, wurde deshalb auf ihre Stimmigkeit untersucht.

Als Trennwert wird jener Wert zwischen beiden Häufigkeitsmaxima definiert, der eine falsche Zuordnung beider Phänotypen bezogen auf ihre relative Häufigkeit gleich wahrscheinlich macht. Für die weitere Berechnung wurde für die Verteilung der logarithmierten MQ-Werte sowohl der langsamen als auch der schnellen Metabolisierer Normalität unterstellt.

Die Verteilungen werden durch ihren Mittelwert und ihre Standardabweichung charakterisiert: $\overline{\log MQ}_{(s)} = -0,464$, S.D. = 0,45; $\overline{\log MQ}_{(l)} = 1,73$, S.D. = 0,31. Der exakte Trennwert wird nach der in 2.5 angegebenen Formel berechnet und beträgt $10^{1,12} = 13,2$. Die graphische Entsprechung findet sich als Schnittpunkt beider Glockenkurven in Abb. 11.

3.1.4 Abschätzung der Heterozygotenfrequenz

Für den Debrisoquin-Hypometabolismus wurde ein monoloculärer autosomal-rezessiver Erbgang beschrieben (38). Es kann nach dem Hardy-Weinberg Gesetz ($p^2 + 2pq + q^2 = 1$; q = Genhäufigkeit des Allels "langsam", 2pq = Heterozygotenfrequenz) anhand der bekannten Häufigkeit der langsamen Metabolisierer die Heterozygotenfrequenz berechnet werden (52). Es ergibt sich eine Häufigkeit von 40,6 %, in der Stichprobe von 87 Patienten ist mit 35 (95-%-Vertrauensbereich: 26 bis 45) Heterozygoten zu rechnen. Die homozygot schnellen Metabolisierer haben einen Anteil von 51,3 % entsprechend 45 (95-%-Vertrauensbereich: 35 bis 54) Patienten.

Heterozygote zeichneten sich in einer britischen und einer Schweizer Familienuntersuchung durch relativ hohe Metabolisierungsquotienten (MQ meist > 1) aus (38, 12). In der fiktiven Annahme, daß sie sich von den homozygot schnellen Hydroxilierern vollständig abgrenzen, würden sie von MQ = 0,5 bis 13,2 reichen. In der vorliegenden Studie wurde die Gruppe der schnellen Hydroxilierer mit geringer Stoffwechselkapazität im Bereich von MQ = 0,7 bis 13,2 wegen der mutmaßlichen Häufung der Heterozygoten getrennt ausgewertet. Diese Grenzziehung ist willkürlich, sie erfolgte im Hinblick auf den Einschnitt im Histogramm der MQ-Werte in Abb. 9 bei MQ = 0,7.

3.1.5 Einfluß einer antiepileptischen Komedikation auf den Metabolisierungsquotienten

Patienten mit einer Phenytoin-Mono- bzw. Kombinationstherapie waren in der Gruppe der schnellen und der langsamen Metabolisierer annähernd gleich stark vertreten, siehe Tab. 3. Die getrennte Betrachtung von schnellen Metabolisierern MQ > 0,7 und schnellen Metabolisierern MQ < 0,7 zeigt, daß die Kombinationstherapien in der Gruppe mit geringerer Stoffwechselleistung signifikant überrepräsentiert sind. Wegen der ge-

ringen Zahl von schnellen Metabolisierern mit MQ > 0,7 (n = 16) kann der Einfluß der Komedikation hier nicht abschließend beurteilt werden. Es liegen jedoch Anzeichen dafür vor, daß Carbamazepin bei einigen schnellen Metabolisierern zu einer Verlangsamung des Debrisoquinstoffwechsels führt (42). Der Median des Metabolisierungsquotienten aller Patienten mit einer Monotherapie lag bei 0,39, jener der Patienten mit einer Kombinationstherapie bei 0,44. Dieser Unterschied erreichte im Wilcoxon-Test jedoch nicht das Signifikanzniveau.

Tab. 3: Verteilung der Patienten mit Phenytoin-Mono- bzw. Kombinationstherapie in Abhängigkeit von der Hydroxilierungskapazität

	Monotherapie	Kombinationstherapie
Schnelle Metabolisierer	49	31
- MQ < 0,7	43	21
- MQ > 0,7	6	10*
Langsame Metabolisierer	4	3

* $p < 0,03$ (Fisher-Test), Vergleich zu MQ < 0,7

3.2 Wiederfindung der Testsubstanz

3.2.1 Wiederfindung von unverändertem Debrisoquin

Die Wiederfindung der Testsubstanz in Prozent der applizierten Dosis ist, wie bereits andere Autoren für 8stündige Sammelperioden bei gesunden Probanden berichteten, erheblichen Schwankungen unterworfen, siehe Abb. 12. Im untersuchten Patientenkollektiv lag der Mittelwert der Debrisoquin Wiederfindung im 5-Stunden-Sammelurin bei 8,8 % (S.D. = 9,2 %, VK = 104 %), das Minimum bei 0,15 % sowie das Maximum bei 47,3 % der applizierten Dosis.

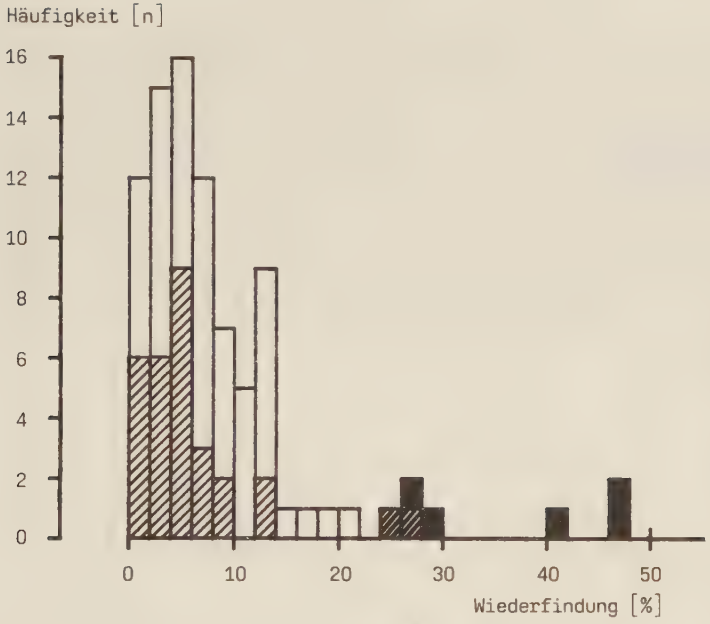


Abb. 12: Wiederfindung von unverändertem Debrisoquin innerhalb von 5 Stunden im Urin in % der applizierten Dosis. Langsame Metabolisierer wurden als geschwärzte Säulen dargestellt, weibliche Patienten durch Schraffur abgesetzt.

Wie erwartet, sinkt mit steigendem Metabolisierungsquotienten der Anteil des wiedergefundenen unveränderten Debrisoquins ($R = 0,90$; $2p < 0,001$), siehe Abb. 13. Langsame Metabolisierer scheiden signifikant ($2p < 0,001$) mehr Debrisoquin in Prozent der Testdosis aus (Median = 28 %) als schnelle Metabolisierer (Median = 5,4 %). Mit Ausnahme der direkt von der Metabolisierungsleistung abhängigen Größen konnten keine Abhängigkeiten von Laborparametern oder epidemiologischen Daten gefunden werden. Dies gilt auch für die nach Gault geschätzte Kreatininclearance ($r = -0,08$; n.s.) sowie für die Höhe der Debrisoquin-Testdosis ($r = -0,01$; n.s.).

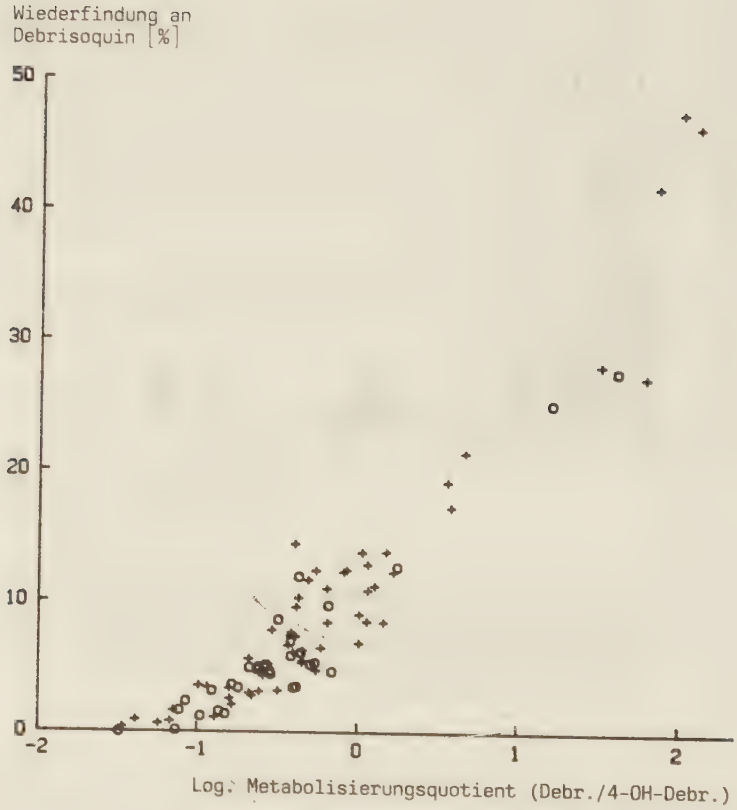


Abb. 13: Korrelation der Wiederfindung an unverändertem Debrisoquin in Prozent der applizierten Dosis mit dem Logarithmus des Metabolisierungsquotienten. Männer = + ; Frauen = o

3.2.2 Wiederfindung der Testsubstanz als 4-OH-Debrisoquin

Die Abb. 14 zeigt ein Histogramm der 4-OH-Debrisoquinausscheidung in Prozent der Testdosis. Die Metabolitenausscheidungsrate schwankt im untersuchten Kollektiv erwartungsgemäß stark (VK = 56 %). Der Median der 4-OH-Debrisoquinausscheidung beträgt 13,7 % (arithm. MW. = 14,6 %), das Minimum 0,35 % und das Maximum 35,5 % der applizierten Debrisoquin-Dosis.

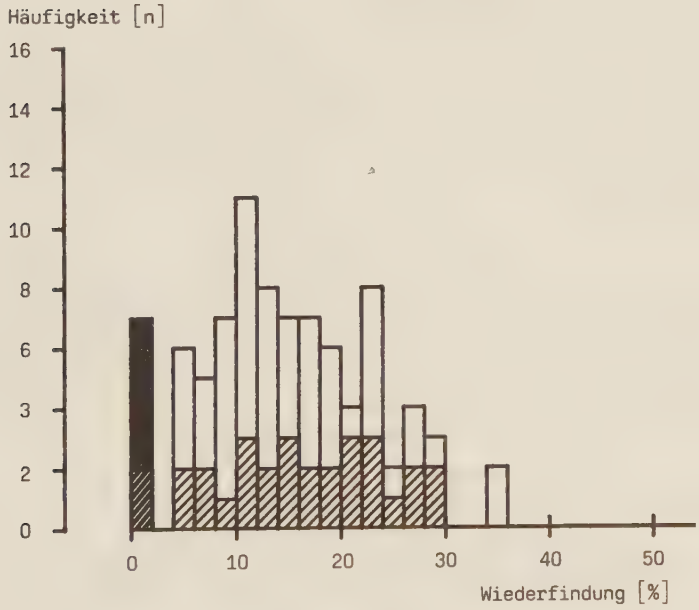


Abb. 14: Wiederfindung von 4-OH-Debrisoquin im 5-h-Sammelurin in % der applizierten Dosis. Langsame Metabolisierer geschwärzt, Frauen schraffiert dargestellt.

Im Histogramm läßt sich die Gruppe der langsamen Metabolisierer abgrenzen. Erwartungsgemäß steigt mit abnehmendem Metabolisierungsquotienten die Wiederfindung an 4-OH-Debrisoquin ($R = -0,55$; $2p < 0,001$), siehe Abb. 15. Langsame Metabolisierer scheiden signifikant weniger ($2p < 0,001$) 4-OH-Debrisoquin (Median: 0,57 %) in Prozent der applizierten Dosis aus als schnelle Metabolisierer (Median: 14,8 %). Die Prüfung der Korrelationskoeffizienten der Metabolitenwiederfindungsrate mit allen anderen Parametern ergab keine signifikanten Abhängigkeiten.

3.2.3 Gesamtwiederfindung

Ein Histogramm der Gesamtwiederfindung zeigt die Abb. 16. Die Summe der Ausscheidung von Debrisoquin und 4-OH-Debrisoquin schwankt im untersuchten Kollektiv von 4,5 % bis 49,8 % der applizierten Dosis. Die mittlere Ausscheidung beträgt 23,5 % (S.D. = 9,0; VK = 38,2 %).

Bei der Betrachtung des Histogramms fällt auf, daß alle langsamen Metabolisierer sich durch eine Gesamtwiederfindung oberhalb des Medians von 24 % auszeichnen ($p < 0,001$; Fisher-Test). Eine unterschiedliche Verteilung von Männern und Frauen liegt nicht vor. Die durchschnittliche Gesamtwiederfindung der langsamen Metabolisierer ist mit 34 % (S.D. = 9,6; VK = 27 %) signifikant ($2p < 0,001$) größer als jene der schnellen Metabolisierer mit 22,4 % (S.D. = 8,2; VK = 36,4 %).

Es besteht eine Korrelation zwischen dem Metabolisierungsquotienten und der Gesamtwiederfindung ($R = 0,22$; $2p < 0,05$), siehe Abb. 17. Andere Abhängigkeiten der Gesamtwiederfindung konnten nicht gefunden werden. Dies gilt insbesondere auch für die geschätzte Kreatininclearance ($r = -0,03$; n.s.), das Volumen des 5-Stunden-Sammelurins ($r = 0,06$; n.s.) sowie die Höhe der Debrisoquin-Testdosis ($r = 0,09$; n.s.).

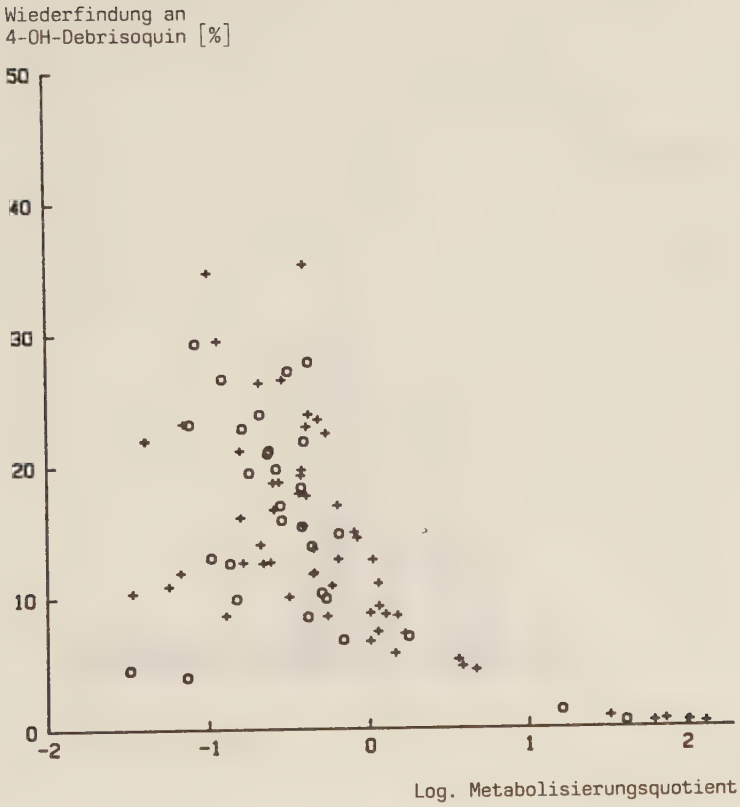


Abb. 15: Korrelation der Wiederfindung an 4-OH-Debrisoquin in Prozent der applizierten Dosis mit dem Logarithmus des Metabolisierungsquotienten. Männer = + ; Frauen = o

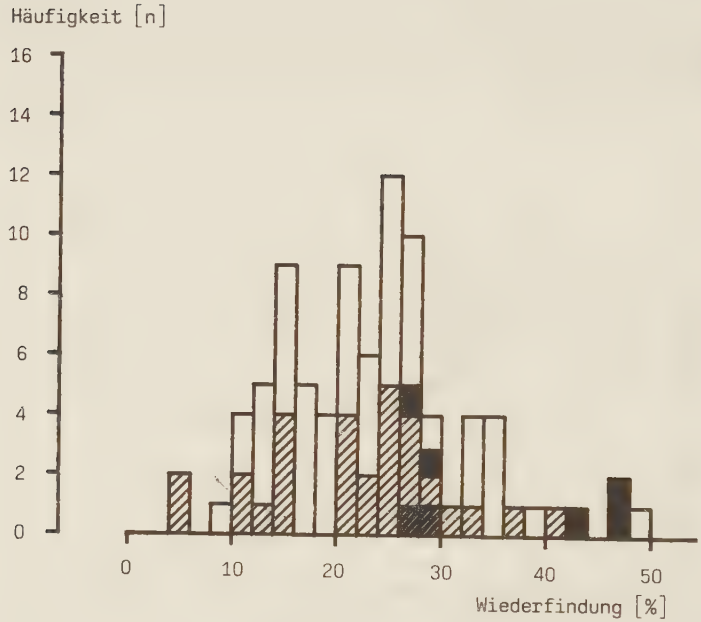


Abb. 16: Gesamtwiederfindung von renal innerhalb von 5 h ausgeschiedenem Debrisoquin sowie seinem 4-Hydroxy-Metaboliten in % der Testdosis. Langsame Metabolisierer geschwärzt, Frauen schraffiert dargestellt.

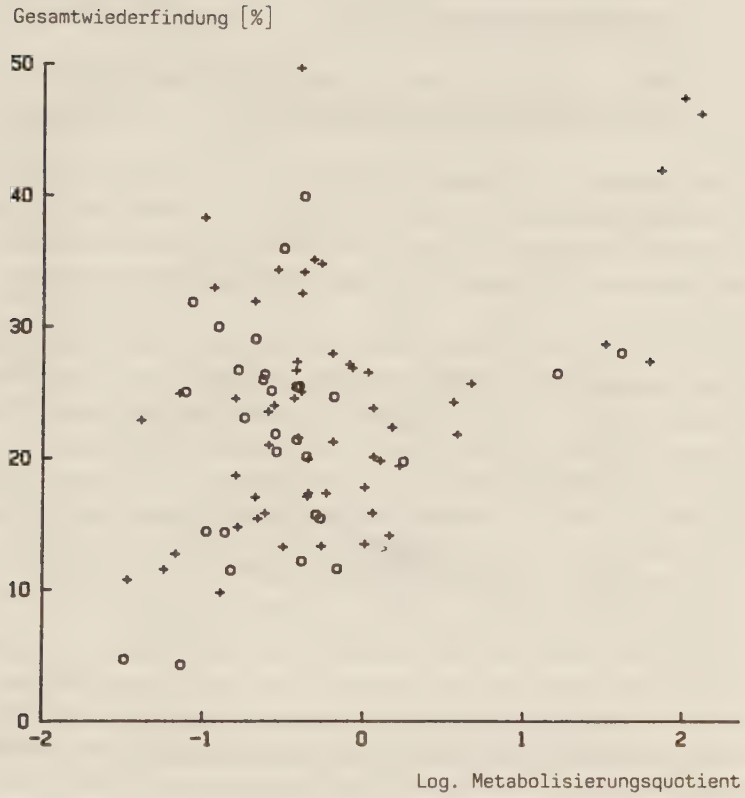


Abb. 17: Korrelation der Gesamtwiederfindung des applizierten Debrisoquins in Prozent mit dem Logarithmus des Metabolisierungsquotienten. Männer = + ; Frauen = o

3.3 Bedeutung des Hydroxilierer-Phänotyps für andere Untersuchungsergebnisse

3.3.1 Assoziation des Hydroxilierer-Phänotyps mit dem individuellen Phenytoindosisbedarf

Zur Klärung des Einflusses des Hydroxilierer-Phänotyps auf die Phenytointherapie wurden die Dosis, die Dosis pro kg Körpergewicht, die erzielte Serumkonzentration sowie der Quotient zwischen Serumkonzentration und Dosis/kg betrachtet.

Die durchschnittlich verordnete Phenytoindosis der schnellen Metabolisierer beträgt 350 mg (S.D.: 93 mg). Sie unterscheidet sich nicht signifikant vom täglichen Phenytoinbedarf der langsamen Metabolisierer, die durchschnittlich 336 mg (S.D.: 94 mg) benötigen, siehe Abb. 18. Es konnte keine Korrelation zwischen der Höhe des Metabolisierungsquotienten und der pro Tag verabfolgten Phenytoindosis gefunden werden ($r = 0,01$; n.s.)

Die auf das Körpergewicht bezogenen Phenytoindosen der schnellen bzw. langsamen Metabolisierer sind in ihrem Mittelwert praktisch identisch. Ermittelt wurden 5,0 mg/kg/die für die schnellen und 5,2 mg/kg/die für die langsamen Metabolisierer. Eine Korrelation mit der Höhe des Metabolisierungsquotienten besteht nicht ($r = 0,08$, $R = -0,04$; n.s.), siehe Abb. 19.

Die Bestimmung der Phenytoinserumkonzentration ergab, daß hier ebenfalls keine signifikanten Unterschiede vorliegen. Die Serumspiegel lagen im Mittel der schnellen Metabolisierer bei 15,7 µg/ml (S.D.: 8,1), im Mittel der langsamen Metabolisierer bei 17,2 µg/ml (S.D.: 9,0). Ein signifikanter Trend zu höheren Serumspiegeln mit steigendem Metabolisierungsquotienten liegt nicht vor ($r = 0,11$, $R = 0,04$; n.s.), siehe Abb. 20.

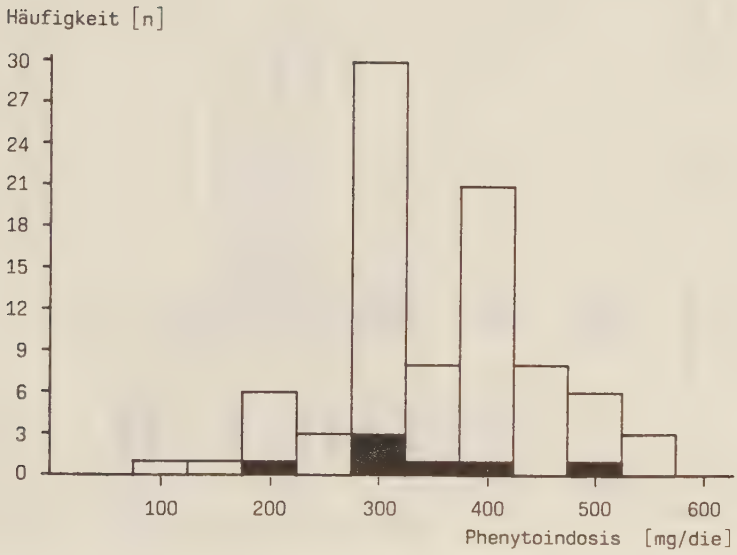


Abb. 18: Tägliche Phenytoindosis bei langsamen Metabolisierern (schwarz) im Vergleich zu schnellen Metabolisierern (weiß) von Debrisoquin.

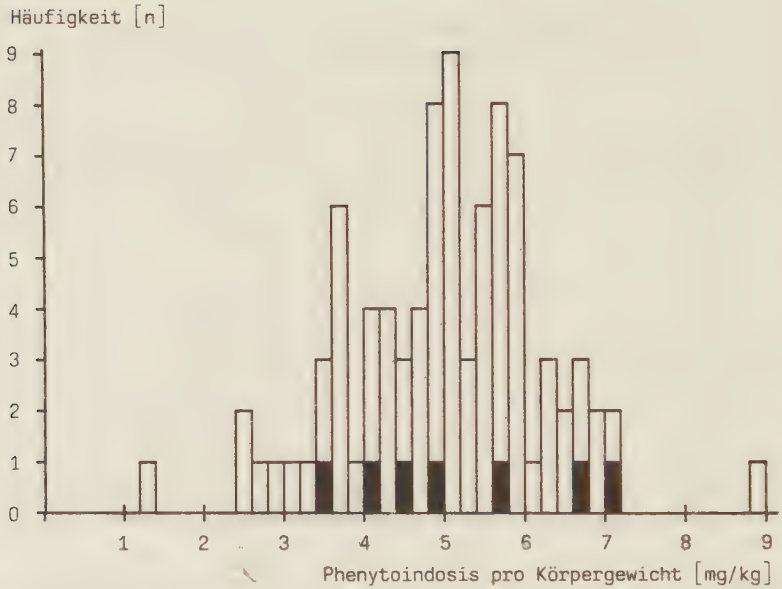


Abb. 19: Vergleich der auf das Körpergewicht bezogenen Phenytoin-Dosen von langsamen Metabolisierern (schwarz) und schnellen Metabolisierern (weiß) von Debrisoquin

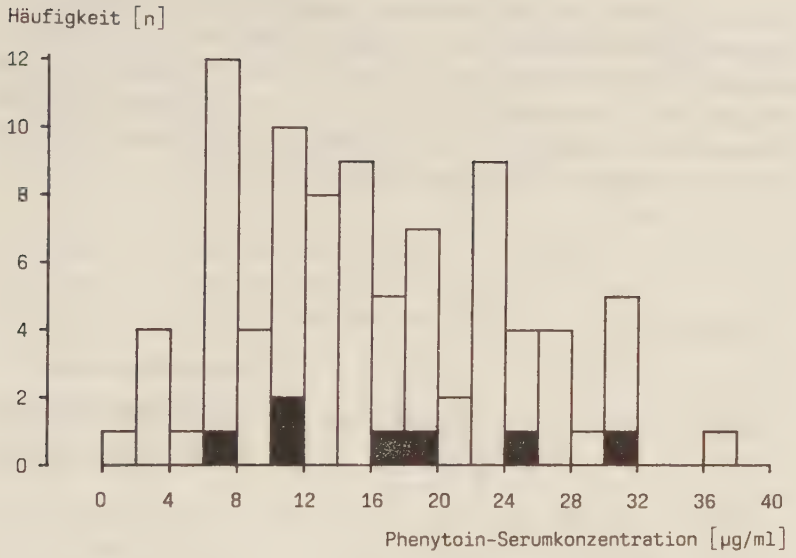


Abb. 20: Vergleich der Phenytoinkonzentrationen im Serum von langsamen Metabolisierern (schwarz) und schnellen Metabolisierern (weiß) von Debrisoquin

Durch Bildung des Quotienten zwischen der Phenytoinserumkonzentration und der Dosis pro kg Körpergewicht (relativer Phenytoinspiegel) wurde versucht, einen Parameter zu finden, der es erleichtert, die interindividuellen Unterschiede des Phenytoinstoffwechsels zu beurteilen. Der bei hohen Phenytoinserumspiegeln nicht mehr linearen Dosis-Wirkspiegel-Beziehung wurde insofern Rechnung getragen, als Patienten, die mit überhöhten Serumspiegeln zur Klinikaufnahme gelangten, erst nach Erreichen des therapeutisch erwünschten Serumspiegels untersucht wurden. Nach den Untersuchungen von Sloan et al. (46) war zu vermuten, daß die langsamen Metabolisierer sich durch einen hohen relativen Phenytoinspiegel auszeichnen.

Im untersuchten Kollektiv schwankt der relative Phenytoinspiegel erwartungsgemäß in erheblichem Umfang. Das Minimum beträgt 0,55 $\mu g \cdot kg \cdot ml^{-1} \cdot mg^{-1}$, das Maximum 7,93 $\mu g \cdot kg \cdot ml^{-1} \cdot mg^{-1}$, der Median 2,94 $\mu g \cdot kg \cdot ml^{-1} \cdot mg^{-1}$. Die Abb. 21 zeigt ein Histogramm der relativen Phenytoinspiegel des phänotypisierten sowie eines größeren Vergleichskollektivs.

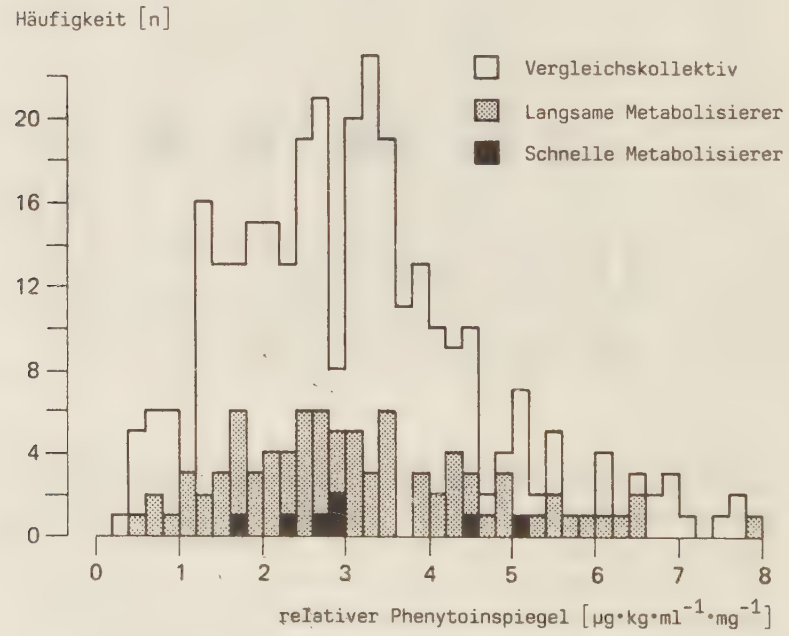


Abb. 21: Verteilung der auf die Dosis pro kg Körpergewicht bezogenen relativen Phenytoin-Serumspiegel. Innerhalb des phänotypisierten Kollektivs (Median = 2,94) wurden die langsamen Metabolisierer mit schwarzen Säulen dargestellt. Ein Vergleichskollektiv (weiß) von 308 epileptischen Patienten mit Phenytoin-Langzeittherapie im Hintergrund. (Dr. C. Cornaggia besorgte dankenswerter Weise die Auswertung von 2/3 des Vergleichskollektivs)

Eine Häufung von langsamen Metabolisierern oberhalb des Medians läßt sich nicht erkennen. Der Mittelwert der schnellen Metabolisierer (3,16; S.D. = 1,6) und jener der langsamen Metabolisierer (3,15; S.D. = 1,2) sind identisch. Das phänotypisierte Kollektiv unterscheidet sich nicht wesentlich von einem größeren Kollektiv vergleichbarer Altersstruktur.

Zusammmenfassend kann gesagt werden, daß sich kein klinisch wirksamer Einfluß des Hydroxilierer-Phänotyps auf die Phenytoin-Langzeittherapie nachweisen läßt.

3.3.2 Einfluß klinischer Daten auf Metabolisierungsquotienten und Hydroxilierer-Phänotyp

Zur Klärung des Einflusses klinischer Größen auf den Hydroxilierer-Phänotyp bzw. zur Aufdeckung von Abhängigkeiten des Metabolisierungsquotienten erfolgte eine nach schnellen und langsamen Metabolisierern getrennte Bestimmung der Mittelwerte, siehe Tab.4. Die entsprechende Korrelation mit den Metabolisierungsquotienten zeigt Tab. 5.

Tab. 4: Vergleich von Median und Standardabweichung klinischer Daten der schnellen und langsamen Metabolisierer von Debrisoquin

	Schnelle Metab.		Langsame Metab.		Signifikanz
	Median	S.D.	Median	S.D.	(Wilcoxon)
Alter [Jahre]	39	11,9	30	15,2	n.s.
Körpergewicht [kg]	69,8	12,7	66,4	19,6	n.s.
Debrisoquindosis [mg/kg]	0,11	0,01	0,12	0,01	n.s.
GOT [U/l]	11	16,2	9	2,1	$2p < 0,04$
GPT [U/l]	16	15,5	13	4,4	n.s.
γ-GT [U/l]	49	68,9	32	41,3	n.s.
Alk. Phosphatase [U/l]	133	69,6	106	75,5	n.s.
Kreatininclearance [ml/min]	108	27	112	37	n.s.

Tab. 5: Korrelation des Metabolisierungsquotienten mit verschiedenen Patientendaten

	r (linear)	Signifikanz	R (n. Spearman)	Signifikanz
Alter	-0,071	n.s.	-0,109	n.s.
Körpergewicht	-0,010	n.s.	-0,038	n.s.
Debrisoquindosis/kg	0,115	n.s.	0,023	n.s.
γ-GT	-0,118	n.s.	-0,168	n.s.
GOT	-0,093	n.s.	-0,158	n.s.
GPT	-0,125	n.s	-0,137	n.s.
Alk. Phosphatase	0,040	n.s.	0,040	n.s.
Kreatininclearance	-0,069	n.s.	-0,072	n.s.

Die berechneten Korrelationen zeigen, daß der Metabolisierungsquotient unabhängig von anderen klinischen Größen ist. Schnelle Metabolisierer unterscheiden sich nur unwesentlich von langsamen Metabolisierern. Es liegt jedoch ein Trend zu einer geringfügig höheren GOT der schnellen Metabolisierer vor. Sowohl der Median als auch der 75-%-Rang beider Phänotypen liegen jedoch sicher im Normalbereich.

3.4 Auftreten und Einfluß einer Enzyminduktion

Da sowohl Phenytoin als auch die ggf. als Komedikation verabreichten Antiepileptika zu einer Beschleunigung zahlreicher Reaktionen des Arzneimittelstoffwechsels führen können, wurden als Parameter für eine Enzyminduktion die γ-GT im Serum sowie die D-Glukarsäureausscheidung im Urin bestimmt.

3.4.1 γ-Glutamyltransferase

Es besteht keine Abhängigkeit zwischen der Höhe der γ-GT und dem Metabolisierungsquotienten (r = 0,11; n.s.), s. Abb. 22.

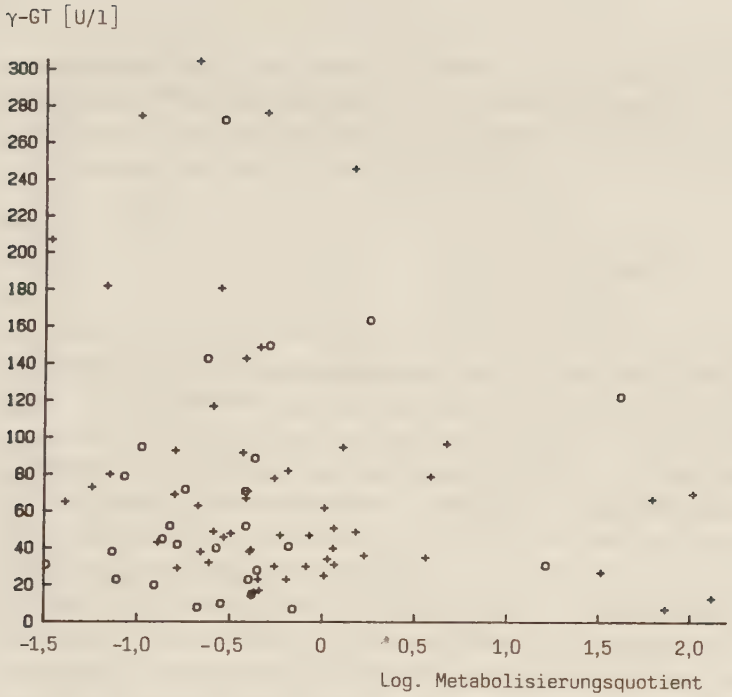


Abb. 22: Korrelation der γ-Glutamyltransferase mit dem logarithmierten Metabolisierungsquotienten von Debrisoquin bei 87 epileptischen Patienten mit Phenytoin-Langzeitmedikation. Männer = + ; Frauen = o

Sowohl der ermittelte Median (49 U/l) als auch der Mittelwert (74 U/l, S.D. = ,67) lagen jedoch oberhalb des Normalbereichs der Methode (3 - 30 U/l). Der Median der schnellen Metabolisierer (49 U/l) unterscheidet sich nicht signifikant von jenem der langsamen Metabolisierer (32 U/l). Die für gesunde Männer gegenüber den Frauen beschriebenen leicht erhöhten Werte traten im Trend auch im untersuchten Kollektiv auf, wenngleich sich der Median der untersuchten Männer (50 U/l) nicht signifikant von jenem der Frauen (43 U/l) unterschied. Die zusätzliche Einnahme von weiteren Antiepileptika führte

nicht zu einer signifikanten Erhöhung der γ-GT (Median bei Phenytoin-Monotherapie: 49 U/l, Median der Kombinationstherapien: 47 U/l). Die Höhe der verabreichten Phenytoindosis blieb ohne Einfluß auf die γ-GT (r = 0,08; n.s.).

3.4.2 D-Glukarsäure

Sowohl der Median (74 µmol/5h) als auch der Mittelwert (112 µmol/5h) der D-Glukarsäurebestimmungen im 5-h-Sammelurin übersteigen den Normalbereich der Methode (bis 50 µmol/die ≙ 10,4 µmol/5h) bei weitem. Es konnte nur bei einer Patientin eine D-Glukarsäureausscheidung im Normbereich gefunden werden (4 µmol/5h). Diese Patientin zeichnet sich jedoch nicht durch einen hohen Metabolisierungsquotienten aus (MQ = 0,03). Auch für das Gesamtkollektiv konnte keine Abhängigkeit des Metabolisierungsquotienten von D-Glukarsäure-Ausscheidung gefunden werden (r = -0,057, R = 0,069; n.s.), siehe Abb. 23. Die Werte der untersuchten Männer (Median = 74 µmol/5h) unterschieden sich nicht signifikant von jenen der Frauen (Median = 76 µmol/5h). Es gelang nicht, signifikante Korrelationen zum Phenytoinstoffwechsel oder zu anderen Parametern aufzustellen. Es wird jedoch der die Enzyminduktion verstärkende Einfluß der antiepileptischen Komedikation deutlich: Patienten mit Kombinationstherapie scheiden signifikant ($2p < 0,001$) mehr D-Glukarsäure (Median = 141 µmol/5h, MW = 190 µmol/5h) aus als Patienten mit Phenytoin-Monotherapie (Median = 55 µmol/5h, MW = 67 µmol/5h). Signifikante Unterschiede zwischen der Gesamtgruppe der schnellen Metabolisierer (Median = 63 µmol/5h) und den langsamen Metabolisierern (88 µmol/5h) ließen sich nicht nachweisen.

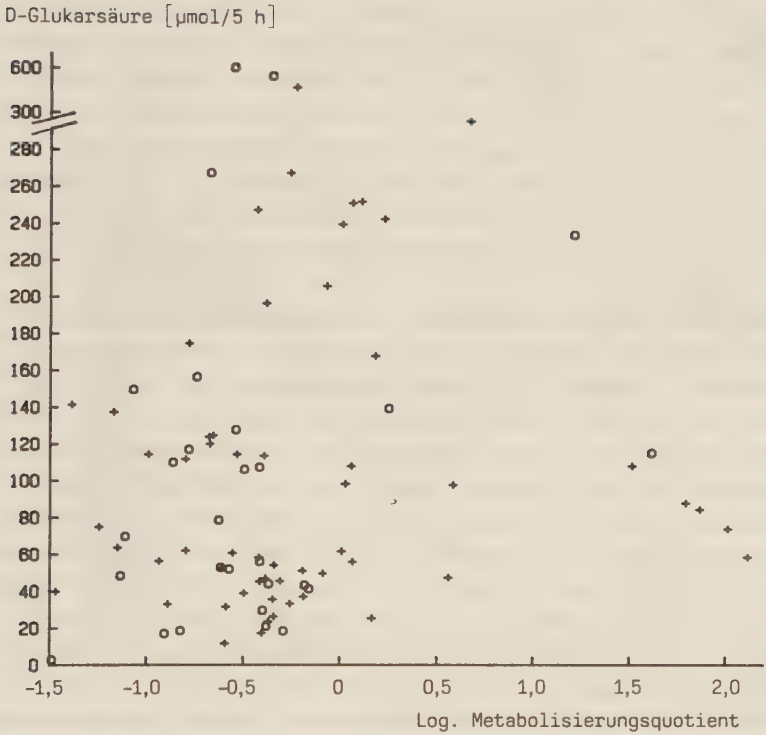


Abb. 23: Korrelation der D-Glukarsäureausscheidung in 5 Stunden mit dem logarithmierten Metabolisierungsquotienten von Debrisoquin bei epileptischen Patienten mit Phenytoin-Therapie. Männer = + ; Frauen = o

3.5 Unterschiede zwischen Männern und Frauen bezüglich des Metabolisierungsquotienten

Von 30 untersuchten Frauen wurden 2 (6,7 %) als langsame Metabolisierer erkannt. Bei 57 männlichen Patienten wurden 5 (8,8 %) langsame Metabolisierer gefunden. Dieser Unterschied ist statistisch nicht signifikant und kann angesichts der geringen Fallzahlen als zufällig angesehen werden. Die für das Gesamtkollektiv ermittelte Frequenz (8,0 %) liegt sowohl innerhalb des 95-%-Vertrauensbereichs der Männer (2,9 % bis 19,3 %) als auch jenem der Frauen (0,8 % bis 22,1 %).

Wenngleich sich die Häufigkeit der langsamen Metabolisierer bei Frauen und Männern nicht signifikant voneinander unterscheidet, ergeben sich jedoch Unterschiede bei der exakten Höhe des Metabolisierungsquotienten. Frauen können im Mittel signifikant ($2p < 0,05$) schneller das verabreichte Debrisoquin verstoffwechseln (arithm. Mittel des Metabolisierungsquotienten der Frauen 2,2, Median 0,29) als männliche Probanden (arithm. Mittel 7,7, Median 0,45). Diese Differenz kann nicht durch die geringfügig höhere Häufigkeit der langsamen Metabolisierer bei den Männern erklärt werden: Auch bei getrennter Betrachtung von schnellen und langsamen Metabolisierern ergeben sich jeweils höhere Metabolisierungsquotienten für die Männer. Der Median ist bei den schnell metabolisierenden Männern (0,41) signifikant ($2p < 0,05$) höher als jener der Frauen (0,28). Beide weiblichen Metabolisierer haben einen geringeren Metabolisierungsquotienten (16,3; 41,2) als der Median der männlichen langsamen Metabolisierer (73,3).

Abb. 24 zeigt die Verteilung der Metabolisierungsquotienten getrennt für Männer und Frauen. Es wird deutlich, daß neben einem im Schnitt kleineren Metabolisierungsverhältnis auch eine andere Verteilung vorliegt. Auffällig ist, daß im Bereich MQ = 0,7 bis MQ = 12,6 nur eine Frau beobachtet wurde.

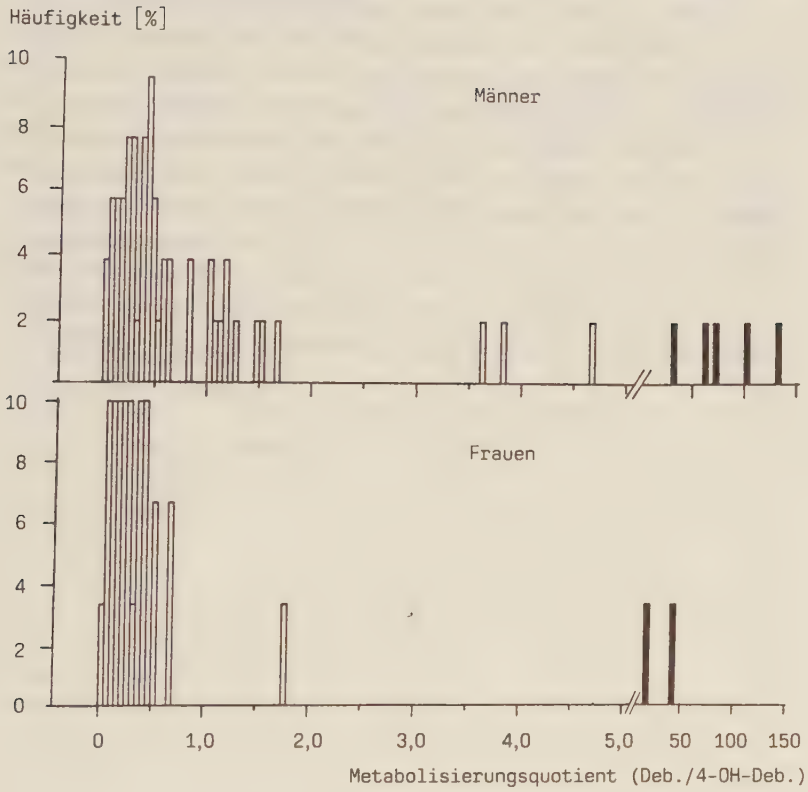


Abb. 24: Prozentuale Verteilung des Metabolisierungsquotienten bei epileptischen Männern (n = 57) und Frauen (n = 30) unter Phenytoin-Therapie

Der Anteil der Frauen in diesem Bereich weicht signifikant ($p < 0,005$, Fisher-Test) vom Erwartungswert (6 Frauen, 99-%-Vertrauensbereich: 2 bis 11 Frauen) ab. Um Faktoren aufzudecken, die neben der antiepileptischen Therapie diese geschlechtsspezifische Verteilung bedingen können, wurden für alle wichtigen Parameter nach Männern und Frauen getrennte Mittelwertsberechnungen vorgenommen, siehe Tab. 6. Eine Unterteilung des Gesamtkollektivs nach dem Geschlecht wurde ferner in den Abb. 3, 12 bis 17 und 22 bis 24 vorgenommen. Lediglich eine Patientin (Nr. 32) nahm ein orales Kontrazeptivum ein. Der Anteil der Patienten mit antiepileptischer Komedikation war in beiden Geschlechtern gleich hoch.

Tab. 6: Vergleich klinischer Daten von Männern und Frauen des phänotypisierten Kollektivs

	Frauen		Männer		Signifikanz
	Median	S.D.	Median	S.D.	(Wilcoxon)
Alter [Jahre]	40	13,3	39	11,7	n.s.
Körpergewicht [kg]	62,5	13,3	79	12,2	2p<0,005
Debrisoquindosis/ Körpergewicht [mg/kg]	0,11	0,01	0,11	0,01	n.s.
Phenytoindosis [mg/die]	300	96	400	91	n.s.
Phenytoindosis/ Körpergewicht [mg/kg/die]	5,4	1,3	5,0	1,2	n.s.
Phenytoin-Serumkonzentration [µg/ml]	15,5	7,5	14,8	8,5	n.s.
relativer Phenytoinspiegel [$\mu g \cdot kg \cdot ml^{-1} \cdot mg^{-1}$]	2,9	1,4	2,9	1,6	n.s.
GOT [U/l]	11	20	10	13	n.s.
GPT [U/l]	16	9	16	17	n.s.
γ-GT [U/l]	43	61	50	70	n.s.
Alkalische Phosphatase [U/l]	127	57	135	75	n.s.
Kreatinin im Serum [mg/dl]	0,8	0,1	0,9	0,2	2p<0,001
Kreatininclearance [ml/min]	96	31	110	27	n.s.
D-Glukarsäure [µmol/5h]	75,5	148	74,3	89	n.s.

4 DISKUSSION

4.1 Eignung der Methode zur Bestimmung des Hydroxilierer-Phänotyps

Mit der vorliegenden Studie sollte eine mögliche Assoziation von Debrisoquin- und Phenytoin-Stoffwechsel überprüft werden. Pharmakokinetische Einzeluntersuchungen an gesunden Probanden könnten Aufschluß geben. Eine Aussage über den Einfluß der chronischen Phenytoineinnahme auf den Debrisoquin-Stoffwechsel und den klinischen Nutzen wäre jedoch nicht möglich. Der Debrisoquin-Test wurde daher bei einer größeren Zahl von Epileptikern mit Phenytoin-Langzeittherapie durchgeführt. In Hinblick auf die größere Zahl der Untersuchungen und ihre Durchführung bei Patienten wurde auf eine einfache und sichere Untersuchungsmethode großen Wert gelegt. Der Test wurde daher entsprechend modifiziert.

4.1.1 Urinsammelperiode

In den Veröffentlichungen vieler Autoren wurde die Sammelperiode mit 8 Stunden angegeben, einige Autoren verwendeten 6-, 12- oder 24stündige Sammelperioden. Eine lange Sammelperiode erschwert die praktische Anwendung des Tests unter klinischen Bedingungen sowie insbesondere eine ambulante Durchführung erheblich. Es wurden deshalb Vorversuche durchgeführt, die den Einfluß der Länge der Sammelperiode auf den Metabolisierungsquotienten prüfen sollten. Bertilsson et al. (6) berichteten über eine zuverlässige Übereinstimmung in den berechneten Metabolisierungsquotienten bei 6- und 12stündiger Sammelperiode ($r = 0{,}99$). Auch die eigenen Beobachtungen zeigten, daß der Metabolisierungsquotient nach Ablauf von zwei Stunden keine Änderung mehr erfährt (Abb. 4 und Abb. 5). Die Verwendung einer 5 Stunden dauernden Sammelperiode bringt keine Einbuße in der Aussagefähigkeit der gewonnenen Daten. Die Abb. 5 zeigt weiterhin, daß die Methode gegen möglicher-

weise unentdeckt gebliebene Fehler in der Urinsammelperiode robust ist.

4.1.2 Höhe der Debrisoquin-Testdosis

Zur pharmakogenetischen Typisierung mit Debrisoquin wird von vielen Autoren eine konstante Dosis von 10 mg oral verabreicht, in älteren Publikationen werden auch 20 mg genannt. Da die verwendete Nachweismethode sehr empfindlich ist, konnten die durchschnittlich verabfolgten Debrisoquinmengen gesenkt werden. Es bot sich eine Staffelung der Debrisoquindosis nach dem Körpergewicht an, um die Vergleichbarkeit von Patienten bzw. Patientenkollektiven zu verbessern. Die gewichtsorientierte Dosierweise von 5 bis 10 mg ermöglichte es, Unterschiede in der auf das Körpergewicht bezogenen Dosierung zwischen Männern und Frauen zu eliminieren (die Mediane sind identisch, $\bar{x}$ = 0,11 mg/kg). Gleichzeitig wurde durch die Staffelung der Dosis die Wahrscheinlichkeit möglicher Hypotonie oder orthostatischer Dysregulation insbesondere für Patienten mit geringem Körpergewicht vermindert.

Die therapeutische Dosis von Debrisoquin beträgt im Falle einer leichten Hypertonie initial 5 - 10 mg/die mit anschließender Steigerung auf 10 - 30 mg/die, eventuell bis 50 mg/die. Bei schwerer Hypertonie wird die Initialdosis von 20 - 40 mg/die auf die Erhaltungsdosis von meist 40 - 50 mg/die, maximal 140 mg/die erhöht. Die verwendete einmalige Testdosis ist somit als subtherapeutisch anzusehen. Berichte über Blutdruckänderungen nach solchen niedrigen Einzeldosen liegen nicht vor. Bei Gabe von 20 mg fanden Idle et al. (19) bei schnellen Metabolisierern keine Änderung im Blutdruck, bei einem Teil der langsamen Metabolisierer stellten sich ca. 4 Stunden nach Einnahme vorübergehende orthostatische Beschwerden ein, die nach 2 - 3 Stunden abgeklungen waren. Bei der gewählten Dosierung kam es bei keinem der Patienten zu Hypotonie oder orthostatischer Dysregulation.

4.1.3 Analyseverfahren

Die Empfindlichkeit der Meßmethode ist mit ca. 0,05 µg/ml als untere Grenze für die quantitative Auswertung ausreichend. Stark konzentrierte Urinproben, deren Gehalt an Debrisoquin bzw. 4-OH-Debrisoquin oberhalb des Meßbereichs lagen, wurden nach Verdünnen erneut bestimmt.

Der für die Bestimmung des Hydroxilierer-Phänotyps der Patienten entscheidene Metabolisierungsquotient bietet gegenüber der Absolutmenge an Debrisoquin und 4-OH-Debrisoquin den Vorteil, daß sich die meisten denkbaren Fehler bei der Bestimmung (z. B. Fehler bezüglich des Standards oder der eingesetzten Urinmenge) sich gleichsinnig auf das Ergebnis für Debrisoquin und 4-OH-Debrisoquin auswirken und durch die Quotientenbildung eliminiert werden. Der Metabolisierungsquotient kann deshalb als besonders ausreißersicher bezüglich unentdeckter Verfahrensfehler gelten.

Die Methode ist unempfindlich gegenüber störenden Verunreinigungen, die Abtrennungen der einzelnen Peaks gut. In Vorversuchen konnte gezeigt werden, daß die Anwesenheit von Antiepileptika oder gebräuchlicher anderer Medikamente keinen störenden Einfluß auf den Analysengang hat. Die geringe Störanfälligkeit konnte insbesondere durch das spezifische Guanidin-selektive Derivatisierungsverfahren, das doppelte Extraktionsverfahren, die hohe Trennleistung der verwendeten Microkapillartechnik sowie die N-selektive Detektion erreicht werden.

4.1.4 Wiederfindung der Testsubstanz

In einer Schweizer Populationsstudie (12) wurden bei Verwendung einer 8stündigen Sammelperiode im Mittel 9,5 % des per os applizierten Debrisoquins bei den schnellen bzw. 29,1 % bei den langsamen Metabolisierern unverändert wiedergefunden.

Die Wiederfindungsrate an 4-OH-Debrisoquin betrug dort im Mittel 20,9 % bei den schnellen bzw. < 2 % bei den langsamen Metabolisierern. Die im eigenen Kollektiv ermittelten Wiederfindungsquoten sind wegen der 5stündigen Sammelperiode geringer (Abb. 12, 14 und 16). Unter Berücksichtigung der Kinetik der Debrisoquinausscheidung (in Vorversuchen betrug die Wiederfindung innerhalb von 5 Stunden 85 % des 8-Stundenwertes, siehe auch Abb. 4) ergeben sich jedoch vergleichbar hohe Wiederfindungsquoten. Signifikante Abhängigkeiten von Alter, Geschlecht, Höhe der Debrisoquin-Dosis, Urinvolumen, Kreatininclearance wurden nicht beobachtet. Es besteht jedoch eine Korrelation ($R = 0,22$; $2p < 0,05$) zwischen der Gesamtwiederfindung und dem Metabolisierungsquotienten (Abb. 17). Da sich langsame und schnelle Metabolisierer in ihrer Resorptionsquote nicht unterscheiden (18), könnte ein für Debrisoquin und 4-OH-Debrisoquin verschiedenes Verteilungsvolumen oder eine unterschiedliche renale Clearance eine Erklärungsmöglichkeit bieten.

Es erhebt sich die Frage, ob die Bestimmung des Hydroxilierer-Phänotyps anhand des Metabolisierungsquotienten gegenüber einer Abgrenzung mit Hilfe der Metabolitenausscheidung allein Vorteile bringt. Obwohl eine Zuordnung im untersuchten Kollektiv möglich erscheint - die 7 Patienten mit dem größten Metabolisierungsquotienten sind auch jene, die am wenigsten Metabolit ausscheiden, siehe Abb. 14 - ist die Trennung der Phänotypen weniger deutlich. Da die Wiederfindung des unveränderten Debrisoquins und des Metaboliten sich gegenläufig verhalten, bringt die Quotientenbildung größere Sicherheit in der Unterscheidung. Es liegt eine signifikante ($p < 0,001$) negative Korrelation ($r = 0,47$) vor. Darüber hinaus hat die Quotientenbildung den Vorteil, daß individuelle Unterschiede in Resorptionsquote oder -geschwindigkeit vernachlässigt werden können.

4.2 Bedeutung der durch Debrisoquin charakterisierten Isoenzymdefizienz im Cytochrom-P-450-System für die Therapie mit Phenytoin

4.2.1 Häufigkeitsverteilung des Metabolisierungsquotienten von Debrisoquin bei epileptischen Patienten

Die ermittelte Frequenz von 8 % langsamen Metabolisierern (95-%-Vertrauensbereich: 3,3 - 15,9 %) liegt in der Nähe der in der Schweiz (9,9 %) bzw. in Großbritannien (8,9 %) gefundenen Häufigkeit (12, 38). Da ausländische Patienten von der Untersuchung ausgeschlossen wurden, gibt die vorliegende Studie zugleich einen Anhalt für die Häufigkeit des Debrisoquin-Hypometabolismus in der deutschen Bevölkerung.

Es liegt kein Anhalt dafür vor, daß durch eine eingeschränkte Nieren- oder Leberfunktion ein langsamer Hydroxilierer-Genotyp lediglich vorgetäuscht worden wäre. Niereninsuffiziente Patienten wurden von der Untersuchung ausgeschlossen. Innerhalb des phänotypisierten Kollektivs besteht keine Korrelation des Metabolisierungsquotienten mit der Kreatininclearance. Patienten mit manifester Lebercirrhose wurden nicht untersucht. Bei 6 Patienten - 5 schnellen und einem langsamen Metabolisierer - war eine zum Teil längere Zeit zurückliegende Alkohol-Anamnese bekannt. Wie die Untersuchungen von Lanthier et al. (27) zeigten, haben leichtere und mittelschwere Leberschäden keinen Einfluß auf den Metabolisierungsquotienten. Insofern sollten klinisch stumme Lebererkrankungen keine fehlerhafte Typisierung zur Folge haben.

Sowohl die Bestimmung der γ-GT als auch der D-Glukarsäure zeigen, daß die Einnahme von Phenytoin und anderer Antiepileptika eine starke Enzyminduktion hervorgerufen hat. Sollte es im Rahmen dieser Induktion auch zu einer Vermehrung jenes Cytochrom-P-450-Isoenzyms kommen, das durch den selektiven Debrisoquinabbau charakterisiert wird, dann sollte die Verteilung des Metabolisierungsquotienten gegenüber einem Nor-

malkollektiv verändert sein. Denkbar wäre sogar, daß durch Induktion die Stoffwechseldefizienz für Debrisoquin gänzlich aufgehoben werden würde. Die bimodale Verteilung der MQ-Werte und somit die Möglichkeit der eindeutigen Identifikation der Phänotypen wäre nicht mehr gegeben. Wenn die Induktion die schnellen und die langsamen Metabolisierer gleichmäßig beträfe, bliebe die Verteilung bimodal, wäre jedoch im Verhältnis zu nicht-induzierten Probanden zu höheren Metabolisierungsleistungen hin verschoben. Eine sinnvolle Bestimmung der Phänotypen anhand des in der Literatur beschriebenen Trennwertes von 12,6 wäre nicht mehr möglich.

Die ermittelte Verteilung der Metabolisierungsquotienten (Abb. 9 und 11) macht einen überragenden Einfluß der Enzyminduktion unwahrscheinlich. Eine Korrelation des Metabolisierungsquotienten mit der Höhe der Parameter für Induktion liegt nicht vor. Als Trennwert ergab sich mit 13,2 ein der Literatur fast gleicher Wert. Für die Zuordnung zu schnellen bzw. langsamen Metabolisierern wäre eine exakte Übereinstimmung unerheblich, da in einem weiten Bereich (von 4,7 bis 16,3) beidseits des angenommenen Wertes in der Praxis keine MQ-Werte auftraten. Diese Trennung der Phänotypen fiel in anderen Kollektiven (2, 12, 38) weniger deutlich aus. Im Verhältnis zu der Schweizer Populationsstudie (12) ist der durchschnittliche Metabolisierungsquotient der schnellen Metabolisierer im eigenen Kollektiv kleiner. Signifikante Unterschiede zwischen Männern und Frauen konnten dort nicht gefunden werden. Es lag jedoch ein Trend zu langsamerem Metabolismus von Debrisoquin bei den Frauen vor. In dem untersuchten Epileptikerkollektiv konnten Frauen Debrisoquin jedoch signifikant ($2p < 0,01$) schneller abbauen. Es erscheint daher möglich, daß bei den Frauen - im Gegensatz zu den Männern - die antiepileptische Therapie zu einer Beschleunigung des Debrisoquinstoffwechsels führt. Eine stärkere Ausprägung dieses Phänomens bei Heterozygoten könnte die signifikante Unterrepräsentierung der Frauen im Bereich von MQ 0,7 bis MQ 12,6 erklären. Auch bei einer anderen Unterteilung der

Gruppe der schnellen Metabolisierer, z. B. MQ bis 0,5 und MQ 0,5 bis 12,6 oder MQ bis 1 und MQ = 1 bis 12,6, bleibt diese Unterrepräsentierung signifikant.

Eine Hemmung des Debrisoquinstoffwechsels durch Phenytoin ist nicht erkennbar, sie müßte sich durch relativ hohe MQ-Werte ausdrücken. Die Höhe des Phenytoinspiegels im Serum ist ohne Einfluß auf den Metabolisierungsquotienten geblieben. Die langsamen Hydroxilierer des untersuchten Kollektivs haben im Trend höhere Metabolisierungsquotienten als langsame Hydroxilierer in gesunden Kollektiven (2, 12, 38). Denkbar wäre, daß die geringe Enzymaktivität der langsamen Hydroxilierer gegenüber einer sehr schwachen Hemmwirkung von Phenytoin bereits empfindlich ist, die auf schnelle Hydroxilierer mit großer Stoffwechselkapazität noch ohne Einfluß bleibt. Die Tatsache, daß es nicht zu einer kompetitiven Hemmung des Debrisoquinstoffwechsels bei schnellen Hydroxilierern kommt, kann jedoch schon als Hinweis dienen, daß Debrisoquin und Phenytoin ganz überwiegend durch verschiedene Cytochrom-P-450-Isoenzyme abgebaut werden.

4.2.2 Phenytoinstoffwechsel

Die Auswirkungen interindividueller Unterschiede der Pharmakokinetik bleiben in der Praxis bei Substanzen mit kurzen Halbwertzeiten und großer therapeutischer Breite oft unbemerkt. Im Falle des Antiepileptikums Phenytoin führen unterschiedliche Stoffwechseleigenschaften jedoch zu nicht unerheblichen therapeutischen Schwierigkeiten, da der Bereich optimaler antikonvulsiver Wirksamkeit und der toxische Bereich sehr dicht beieinander liegen. Phenytoin (Zentropil®, Phenhydan®, Epanutin®) ist bei Verordnung mit der Indikation Krampfanfälle in der Regel eine Langzeitmedikation, mögliche unerwünschte Wirkungen können erheblich sein. Gingivahyperplasie, megaloblastische Anämie und Osteomalazie sind selbst unter therapeutischen Serumspiegeln bei einer Langzeitbehand-

lung möglich. Es kann dosisunabhängig zu Überempfindlichkeitsreaktionen wie Exanthemen, bullösen Dermatitiden, Lymphdrüsenschwellungen, Leukopenien bis hin zur sehr seltenen Agranulozytose und Phenytoin-Hepatitis kommen. Akute Überdosierungserscheinungen äußern sich vorwiegend in vielfältiger cerebellärer Symptomatik.

Wird bei der Ersteinstellung die übliche Standarddosis von 300 mg Phenytoin pro Tag angewandt, so lassen sich nur schwer Vorhersagen über den Steady-state-Spiegel des Pharmakons im Serum machen. Die Mehrzahl der behandelten Epileptiker wird einen Serumspiegel innerhalb des üblichen therapeutischen Bereiches (10 - 25 µg/ml) mit dieser Dosierung erreichen, andere werden deutlich darunter liegen. Wenige Patienten werden jedoch bereits mit einer Dosis von 300 mg pro Tag einen überhöhten Phenytoinspiegel aufweisen. Auch die Dosierung des Phenytoins bezogen auf das Körpergewicht (übliche Dosis: 5 - 6 mg/kg) führt nicht immer zu therapeutischen Serumspiegeln. In der Regel werden deshalb zusätzlich zu der klinischen Überwachung in regelmäßigen Abständen Bestimmungen der Serumkonzentration durchgeführt.

Die von Kutt et al. (26) erstmals beschriebene erbliche Defizienz in der 4-Hydroxilierung von Phenytoin ist eine der zahlreichen Ursachen der großen interindividuellen Variationsbreite. Auch in dem untersuchten Kollektiv streuten Dosis, Dosis/kg, Serumspiegel sowie der Quotient von Serumspiegel und Dosis/kg stark, eine bimodale Verteilung konnte jedoch im Gegensatz zum Debrisoquin-Test nicht gefunden werden, siehe Abb. 18 - 21. Dies gilt auch für ein größeres (n = 308) nicht-phänotypisiertes Epileptikerkollektiv. Die Berechnung des Quotienten von Serumspiegel und Dosis/kg von Phenytoin ist wegen des Übergangs zu einer Kinetik nullter Ordnung bei hohen Serumspiegeln nur eine hilfsweise Näherung, dennoch müßten Patienten mit defizienter 4-Hydroxilierung von Phenytoin überwiegend einen hohen Quotienten aufweisen.

Dosis, Dosis/kg, Serumspiegel sowie der Quotient von Serumspiegel und Dosis/kg sind im untersuchten Kollektiv altersunabhängig. Eine Korrelation mit der nach Gault geschätzten Kreatininclearance, der GOT, GPT, γ-GT und der D-Glukarsäure konnte nicht gefunden werden. Es liegt keine Häufung besonders hoher oder niedriger Quotienten von Serumspiegel und Dosis/kg vor, die Verteilung unterscheidet sich nicht signifikant von einem größeren Epileptikerkollektiv (Abb. 21).

4.2.3 Assoziation des Hydroxilierer-Phänotyps mit Phenytoin-Serumkonzentration und -Dosisbedarf

Wegen der geringen therapeutischen Breite und der großen Toxizität von Phenytoin ist die Kenntnis einer Stoffwechseldefizienz von erheblichem klinischen Nutzen. Es lag daher nahe zu prüfen, ob eine gemeinsame Regulation von Debrisoquin- und Phenytoin-Stoffwechsel vorliegt. Sloan et al. (46) untersuchten in Großbritannien die Ausscheidung des Phenytoin-Hauptmetaboliten 4-OH-Phenytoin im Urin bei 5 schnellen und 6 langsamen Metabolisierern von Debrisoquin. Die nach einmaliger oraler Gabe von 200 mg nach 36stündiger Sammelperiode ermittelten Wiederfindungen der schnellen Metabolisierer waren signifikant ($p < 0,05$) größer (MW: 43 %) als die der langsamen Metabolisierer (MW: 30 %). Die aus den 4-OH-DPH-Bestimmungen im Urin errechnete Bildungskonstante der schnellen Metabolisierer (MW: $k_f = 0,03\ h^{-1}$) war größer ($p < 0,001$) als jene der langsamen Metabolisierer von Debrisoquin (MW: $k_f = 0,016\ h^{-1}$). Andoh et al. (3) untersuchten in Ghana mit gleicher Methode 4 langsame und 4 schnelle Metabolisierer von Debrisoquin. Die ermittelten Wiederfindungen in Form des 4-OH-DPH betrugen jedoch durchschnittlich nur 10 % bei den langsamen sowie 14 % bei den schnellen Metabolisierern. Diese Ergebnisse machten eine Assoziation von Debrisoquin- und Phenytoin-Stoffwechsel wahrscheinlich, zeigen jedoch, daß ethnische Unterschiede eine weitaus größere Rolle im Pheny-

toin-Stoffwechsel spielen dürften als der Debrisoquin-Polymorphismus.

Bei den untersuchten 87 Epileptikern konnte diese Assoziation nicht einmal im Trend bestätigt werden. Es fand sich keine Abhängigkeit zwischen der Aktivität des Debrisoquin- und Phenytoin-Stoffwechsels. Die eigenen Untersuchungen stehen im Einklang mit der kasuistischen Beobachtung von Kadar et al. (23), die bei einem langsamen Metabolisierer (MQ = 48) und einem schnellen Metabolisierer von Debrisoquin (MQ = 0,96) mittels ^{14}C-markiertem Phenytoin Untersuchungen der Kinetiken durchführten. Bei beiden Probanden fanden sich identische Halbwertzeiten (15,2 bzw. 15,9 h). Die ermittelte Bildungskonstante des 4-OH-DPH betrug 0,0133 mg/h bei dem langsamen Metabolisierer von Debrisoquin, jene des schnellen Metabolisierers 0,0125 mg/h.

Auch de Wolff et al. (54) berichteten über einen Patienten, bei dem als Ursache einer schweren Phenytoin-Intoxikation eine eingeschränkte 4-Hydroxilierung von Phenytoin erkannt worden war. Der Serumspiegel des 69 kg schweren Patienten stieg bei einer Dosis von 150 mg/die auf 41,3 µg/ml, erst mit einer Dosis von 100 mg konnte ein therapeutisch erwünschter Serumspiegel erreicht werden. Der Debrisoquin-Test ergab einen Metabolisierungsquotienten von 0,8. Der Patient war somit eindeutig schneller Metabolisierer von Debrisoquin mit einer stark eingeschränkten 4-Hydroxilierung von Phenytoin.

Die unter klinischen Bedingungen durchgeführte eigene Studie sowie die Beobachtungen von de Wolff et al.(54) zeigen, daß bei einer Langzeitmedikation der Hydroxilierer-Phänotyp keinen Einfluß auf den Phenytoin-Stoffwechsel hat. Insbesondere ist eine Vorhersage des zu erwartenden Serumspiegels bei Kenntnis von DPH-Dosis und Metabolisierungsquotient von Debrisoquin unmöglich. Die erbliche Defizienz der 4-Hydroxilierung von Phenytoin stellt somit - ähnlich wie die Defizienz

im Mephenytoin-Stoffwechsel (25) - einen eigenständigen Polymorphismus dar.

Ein untergeordneter Einfluß des Debrisoquin-Polymorphismus ist jedoch nicht ausgeschlossen. Denkbar wäre, daß durch Induktion anderer Cytochrom-P-450-Isoenzyme bei einer Langzeittherapie dieser Einfluß bedeutungslos und klinisch nicht mehr nachweisbar wird. Es erscheint jedoch auch möglich, daß Sloan et al. angesichts der geringen Fallzahl (n = 11) und der großen Varianz in der Phenytoinkinetik die Nullhypothese der Unabhängigkeit von Debrisoquin- und Phenytoin-Stoffwechsel zu unrecht ablehnten.

Wenngleich die vorliegende Studie die postulierte Assoziation von Debrisoquin- und Phenytoin-Hypometabolismus widerlegt hat, konnten neue Erkenntnisse über die Interaktion von Antiepileptika mit dem Debrisoquin-Test gewonnen werden. Auffällig war insbesondere die signifikante Unterrepräsentierung der Frauen im Bereich von MQ 0,7 bis 12,6. Weitere Untersuchungen sollten klären, welche Rolle Geschlecht und antikonvulsive Therapie bei heterozygot defizienten Hydroxilierern von Debrisoquin spielen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Individuelle Unterschiede im Arzneimittelstoffwechsel sind für viele Substanzen seit langem bekannt. Im Falle des Phenytoins können bei Defizienz der 4-Hydroxilierung schon übliche therapeutische Dosen eine Intoxikation hervorrufen. Eine Assoziation dieser Phenytoin-Stoffwechselschwäche mit einer erblichen Defizienz im Cytochrom-P-450-System, die sich mit Hilfe des Debrisoquin-Tests nachweisen läßt, ist vermutet worden. Mit der vorliegenden Untersuchung sollte daher versucht werden, die bei wenigen gesunden Probanden nach einmaliger Gabe von 200 mg Phenytoin gefundene Assoziation bei einem größeren Epileptiker-Kollektiv mit Phenytoin-Langzeittherapie zu überprüfen.

Bei 87 Epileptikern (57 Männer und 30 Frauen) im Alter von 18 - 63 Jahren wurde der Debrisoquin-Test durchgeführt. 33 Patienten (38 %) bekamen neben dem Phenytoin weitere Antiepileptika verabreicht. Patienten mit einer Zweitkrankheit bzw. einer Komedikation, die das Ergebnis des Debrisoquin-Tests verfälschen könnten, wurden von der Untersuchung ausgeschlossen.

Die Patienten erhielten, nach dem Körpergewicht gestaffelt, 5 - 10 mg Debrisoquin per os verabfolgt. Im 5-Stunden-Sammelurin wurde die Ausscheidung an Debrisoquin und 4-OH-Debrisoquin mittels Gaschromatographie gemessen. Der Metabolisierungsquotient (MQ = Debrisoquin in 5 h/4-OH-Debrisoquin in 5 h) wurde berechnet. Auch unter der Phenytoin-Langzeittherapie war die Verteilungsfunktion des Metabolisierungsquotienten bimodal. 7 Patienten (8 %) wurden als langsame Metabolisierer von Debrisoquin (MQ > 12,6) erkannt. Die Wiederfindung an unverändertem Debrisoquin der langsamen Metabolisierer ist gegenüber den schnellen Metabolisierern erhöht. Langsame Metabolisierer scheiden 0,35 % bis 1,1 % der applizierten Dosis als 4-OH-Debrisoquin aus, während der Median bei den schnellen Metabolisierern 14,8 % beträgt. Es liegt ein signifikan-

ter Trend zu einer höheren Gesamtwiederfindung mit steigendem Metabolisierungsquotienten vor. Eine Hemmung des Debrisoquin-Stoffwechsels durch die Anwesenheit von Phenytoin konnte nicht nachgewiesen werden. Die durch die antiepileptische Therapie hervorgerufene Enzyminduktion wurde durch die Messungen der γ-GT und der D-Glukarsäure objektiviert. Sie blieb ohne ersichtlichen Einfluß auf den Debrisoquin-Test.

Die untersuchten Frauen konnten Debrisoquin durchschnittlich schneller verstoffwechseln als die männlichen Patienten. Bei den phänotypisch schnellen Metabolisierern mit eingeschränkter Fähigkeit zur Hydroxilierung (Metabolisierungsquotient > 0,7 und < 12,6) liegt eine signifikante Unterrepräsentierung der Frauen vor.

Gleichzeitig liegt in diesem Bereich eine signifikante Häufung von Patienten mit antiepileptischer Komedikation vor. Dies deutet auf eine Hemmung des Debrisoquin-Metabolismus durch Primidon oder Carbamazepin hin.

Eine Assoziation von Debrisoquin- und Phenytoin-Stoffwechsel konnte nicht gefunden werden. Langsame Metabolisierer von Debrisoquin zeichnen sich nicht durch einen niedrigen Phenytoin-Dosisbedarf aus. Die erzielten Serumspiegel unterscheiden sich nicht von denen der schnellen Metabolisierer. Auch der Vergleich der Quotienten von Phenytoinspiegel und verabfolgter Phenytoin-Dosis pro kg Körpergewicht ließ keinen Unterschied erkennen. Es gelang nicht, Korrelationen zwischen der Höhe des Metabolisierungsquotienten von Debrisoquin und Parametern der Phenytointherapie aufzustellen. Eine Vorhersage über den Phenytoin-Dosisbedarf bei bekanntem Hydroxilierer-Phänotyp ist somit unmöglich. Es ist daher anzunehmen, daß der Phenytoin-Stoffwechsel einer eigenständigen erblichen Regulation unterliegt.

6 ANHANG

Tab. 7: Liste der wichtigsten Patientendaten, ggf. der antiepileptischen Komedikation sowie aller neben der antiepileptischen Therapie eingenommenen sonstigen Medikamente

Nr.	♂/♀	Alter (J.)	Körpergewicht (kg)	MQ	Phenytoindosis (mg)	Phenytoinspiegel (µg/ml)	Antiepi. Komed.	Sonst. Med.
1	m	27	46	0,49	200	10,5		
2	w	30	51	0,24	300	23,5		1,2
3	w	43	64	0,40	200	9,8	V	3,4,5,6
4	m	30	68	0,12	225	14,6		
5	w	45	54	0,24	300	10,0		
6	w	52	65	0,51	300	7,2		
7	m	62	79	0,39	300	7,4		
8	m	41	81	73,28	400	24,9		
9	w	30	63	0,21	350	23,9	C	
10	m	30	61	0,41	325	30,0	PR	
11	m	28	84	0,82	300	6,8	C,E	
12	m	37	54	1,14	300	11,5	C	
13	w	63	54	0,12	300	13,0		
14	w	20	44	16,27	200	10,2	PR	
15	m	30	68	0,43	300	3,7		
16	m	25	73	3,63	275	24,2		7
17	w	36	56	0,42	300	31,2		
18	m	30	70	0,07	400	14,8		
19	w	22	83	0,09	550	22,9	C	
20	w	50	63	0,38	300	15,3	V	
21	m	30	74	0,40	350	12,2		
22	m	35	72	0,10	500	21,7	PR	
23	w	33	80	0,14	550	27,1		
24	w	59	80	0,43	350	7,0		
25	m	30	86	130,84	350	10,7		
26	m	23	58	0,29	300	25,5		
27	w	55	48	0,32	200	25,0		

Nr.	♂/♀	Alter (J.)	Körpergewicht(kg)	MQ	Phenytoindosis(mg)	Phenytoinspiegel(µg/ml)	Antiepi. Komed.	Sonst. Med.
28	m	39	78	0,38	400	8,7		
29	w	32	56	1,78	350	31,2	C	
30	w	27	57	0,16	500	12,2		
31	m	21	68	0,16	425	28,3	PR	
32	w	30	64	0,54	450	23,4	C	7,8
33	m	26	77	4,68	400	27,9	C,PR,R	
34	w	24	45	0,66	225	23,0		10
35	m	43	83	0,21	475	37,4		11
36	m	23	82	1,06	100	1,2	C	
37	m	45	83	0,45	400	7,9		12
38	m	40	66	0,85	375	15,7		
39	m	45	78	0,55	450	31,4	PR	
40	m	41	85	32,65	300	6,2	C,PR	12
41	m	61	60	1,15	300	15,8	PR	
42	m	57	68	1,02	400	8,6		13,14
43	m	33	63	0,55	225	12,0	C,E	
44	w	36	95	0,39	360	7,7		
45	w	55	55	0,07	300	13,1		12,15,16
46	w	57	59	0,29	400	15,8	C	
47	m	18	75	62,10	500	19,7	C	
48	m	57	55	1,16	200	15,0		
49	m	36	90	0,06	450	17,7		
50	m	23	83	0,17	500	19,1	C	
51	m	43	75	0,26	300	10,3		
52	m	35	73	1,51	425	18,0		
53	m	29	89	1,68	450	18,0	C,PB	
54	w	20	68	0,08	400	15,6		
55	w	47	88	0,18	400	22,2		
56	m	57	87	0,22	450	10,7	C	4
57	w	57	55	0,27	300	14,7		4,14 17,18
58	m	32	62	0,46	400	26,7		19
59	m	50	102	0,07	400	16,5		
60	m	58	42	102,90	300	31,8		

Nr.	♂/♀	Alter (J.)	Körpergewicht (kg)	MQ	Phenytoindosis (mg)	Phenytoinspiegel (µg/ml)	Antiepi. Komed.	Sonst. Med.
61	m	47	71	0,03	300	3,0		
62	w	52	79	0,15	300	6,7		
63	w	24	80	0,28	350	19,2	PR	
64	m	38	77	1,02	400	22,0	C,PR	
65	m	53	83	0,41	400	13,2		
66	m	41	72	0,13	400	3,1		
67	m	41	75	0,39	300	6,1		20
68	m	31	51	0,37	300	20,8	C	
69	m	25	64	0,64	300	12,1		
70	m	53	80	0,32	400	12,4		
71	m	45	78	0,21	400	18,3		21
72	m	52	62	0,26	300	3,3		
73	m	46	105	0,45	300	9,3		
74	m	53	72	1,46	400	6,6		
75	m	23	68	0,16	400	23,2	PR,E	
76	m	37	62	0,24	300	27,1	E	
77	w	18	52	41,20	300	16,9		19
78	m	48	71	1,28	450	19,1	PR,R	
79	w	44	54	0,11	150	17,3	V	
80	m	52	85	0,04	500	12,6		
81	m	41	85	3,84	550	22,5		22,23
82	m	19	70	0,65	400	16,3		
83	m	48	63	0,28	300	6,3		
84	m	49	72	0,59	175	6,6	C,PR	24
85	w	41	65	0,44	400	10,9	C,PR	25
86	w	40	79	0,69	300	10,8		26
87	w	39	65	0,03	300	4,8		

Antiepileptische Komedikation

PR = Primidon
PB = Phenobarbital
V = Valproinsäure
C = Carbamazepin
R = Clonazepam
E = Ethosuximid

Sonstige Medikamente

1 = Erythromycin

noch zu sonstige Medikamente:

2 = Prometazin
3 = Isosorbiddinitrat
4 = ß-Acetyldigoxin
5 = Furosemid
6 = Spironolacton
7 = Perazin
8 = Clobazam
9 = Levonorgestrel + Ethinylestradiol
10 = Norfenefrin
11 = Diazepam
12 = Dihydroergotaminmethansulfonat
13 = Vitamin B_1
14 = Acetylsalicylsäure
15 = Mianserin
16 = Vitamin A + B_1 + B_2 + B_6 + B_{12} + C + D_3 + E + Calciumpantothenat + Folsäure + Nicotinamid
17 = Verapamil
18 = Aluminiumhydoxid + Calciumcarbonat
19 = Nitrazepam
20 = Cimetidin
21 = Allopurinol
22 = Levomepromazin
23 = Flupentixolhydrochlorid
24 = Folsäure
25 = Trimethoprim + Sulfamethoxazol
26 = Clometiazol

7 LITERATURVERZEICHNIS

(1) AL-DABBAGH, S.G., IDLE, J.R., SMITH, R.L.: Unveröffentlichte Untersuchungen zitiert nach (48)

(2) ALVAN, G., von BAHR, C., SEIDEMANN, P., SJÖQVIST, F.: High plasma concentrations of β-receptor blocking drugs and deficient debrisoquine hydroxylation. Lancet 1, 333 (1982)

(3) ANDOH, B., IDLE, J.R., SLOAN, T.P., SMITH, R.L., WOOLHOUSE, N.: Inter-ethnic and interphenotype differences among Ghanaians and Caucasians in the metabolic hydroxylation of phenytoin. Br. J. Clin. Pharmac. 9, 282 - 283 (1980)

(4) ANDREASEN, B., FRØLAND, A., SKOVSTED, L., ANDERSEN, S., HAUGE, M.: Diphenylhydantoin half-life in man and its inhibition by phenylbutazone: The role of genetic factors. Acta Med. Scan. 193, 561 - 564 (1973)

(5) ANGELO, M.M., DRING, L.G., LANCASTER, R., LATHAM, A., SMITH, R.L.: A correlation between the response to debrisoquine and the amount of anchanged drug excreted in the urine. Br. J. Pharmac. 55, 264 (1975)

(6) BERTILSSON, L., DENGLER, H.J., EICHELBAUM, M., SCHULZ, H.-U.: Pharmacogenetic covariation of defective N-oxidation of sparteine and 4-hydroxylation of debrisoquine. Eur. J. Clin. Pharmacol. 17, 153 - 155 (1980)

(7) BERTILSSON, L., ABERG-WISTEDT, A.: The debrisoquine hydroxylation test predicts steady-state plasma levels of desimipramine. Br. J. Clin. Pharmac. 15, 388 - 390 (1983)

(8) COCKCROFT, D.W., GAULT, M.H.: Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. Nephron 16, 31 - 41 (1976)

(9) DAVIES, D.S., KAHN, G.C., MURRAY, S., BRODIE, M.J., BOOBIS, A.R.: Evidence for an enzymatic defect in the 4-hydroxylation of debrisoquine by human liver. Br. J. Clin. Pharmac. 11, 89 - 91 (1981)

(10) DAYER, P., BALANT, L., COURVOISIER, F., KÜPFER, A., KUBLI, A., GORGIA, A., FABRE, J.: The genetic control of bufuralol metabolism in man. Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet. 7, 73 - 77 (1982)

(11) DEVONSHIRE, H.W., KONG, I., COOPER, M., SLOAN, T.P., IDLE, J.R., SMITH, R.L.: The contribution of genetically oxidation status to inter-individual variation in phenacetin disposition.
Br. J. Clin. Pharmac. 16, 157 - 166 (1983)

(12) DICK, B., KÜPFER, A., MOLNAR, J., BRAUNSCHWEIG, S., PREISIG, R.: Hydroxylierungsdefekt für Medikamente (Typus Debrisoquin) in einer Stichprobe der Schweizer Bevölkerung.
Schweiz. Med. Wschr. 112, 1061 - 1067 (1982)

(13) DIEM, K., LENTNER, C.: Wissenschaftliche Tabellen Documenta Geigy.
7. Auflage, Thieme Verlag Stuttgart 1975

(14) DISTLERATH, L.M., REILLY, P.E.B., MARTIN, M.V., WILKINSON, G.R., GUENGERICH, F.P.: Immunochemical characterization of the human liver cytochrome P-450 involved in debrisoquine hydroxylation.
In: Microsomes and Drug Oxidations. Proceedings of the 6th International Symposium Brighton 1984
Edited by Boobis, A.R., Caldwell, J., De Matteis, F., Elcombe, C.R.; Taylor & Francis, London and Philadelphia 1985, S. 380 - 389

(15) DISTLERATH, L.M., GUENGERICH, F.P.: Characterization of a human liver cytochrome P-450 involved in the oxidation of debrisoquine and other drugs by using antibodies raised to the analogous rat enzyme.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 7348 - 7352 (1984)

(16) ENGEL, A.: Wahrscheinlichkeitsrechnung und Statistik.
Band 1. Klett Verlag, Stuttgart 1. Auflage 1973,
S. 63 - 66

(17) ERDTMANSKY, P., GOEHL, T.J.: Gas-liquid chromatographic electron capture determination of some monosubstituted guanido-containing drugs.
Analytical Chemistry 47, 750 - 752 (1975)

(18) IDLE, J.R., MAHGOUB, A., ANGELO, M.M., DRING, L.G., LANCASTER, R., SMITH, R.L.: The metabolism of ^{14}C-debrisoquine in man.
Br. J. Clin. Pharmac. 7, 257 - 266 (1979)

(19) IDLE, J.R., MAHGOUB, A., LANCASTER, R., SMITH, R.L.: Hypotensive response to debrisoquine and hydroxilation phenotype.
Life Sci. 22, 979 - 984 (1978)

(20) IDLE, J.R., SMITH, R.L.: The debrisoquine hydroxylation gene: A gene of multiple consequence.
In: Proceedings of the Second World Conference on Clinical Pharmacology and Therapeutics, Washington D.C. 1983. Edited by Lemberger, L. and Reidenberg, M.; American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics 1983, S. 148 - 164

(21) INABA, T., OTTON; S.V., KALOW, W.: Debrisoquine hydroxylation capacity: problems of assessment in two populations.
Clin. Pharmacol. Ther. 29, 218 - 223 (1981)

(22) ISLAM, S., IDLE, J.R., SMITH, R.L.: The polymorphic 4-hydroxylation of debrisoquine in a Saudi arab population.
Xenobiotica 10, 819 - 825 (1980)

(23) KADAR, D., FECYCZ, T.D., KALOW, W.: The fate of orally administered ^{14}C-phenytoin in two healthy male volunteers.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 61, 403 - 407 (1983)

(24) KITCHEN, I., TREMBLAY, J., ANDRE, J., DRING, L.G., IDLE, J.R., SMITH, R.L., WILLIAMS, R.T.: Interindividual and interspecięs variation in the metabolism of the hallucinogen 4-methoxyamphetamine.
Xenobiotica 9, 397 - 404 (1979)

(25) KÜPFER, A., PREISIG, R.: Pharmacogenetics of mephenytoin: a new drug hydroxylation polymorphism in man.
Eur. J. Clin. Pharmacol. 26, 753 - 759 (1984)

(26) KUTT, H., WOLK, M., SCHERMAN, R., McDOWELL, F.: Insufficient parahydroxylation as a cause of diphenylhydantoin toxicity.
Neurology 14, 542 - 548 (1964)

(27) LANTHIER, P.L., RESHEF, R., SHAH, R.R., OATES, N.S., SMITH, R.L., MORGAN, M.Y.: Oxidation phenotyping in alcoholics with liver disease of varying severity.
Alcolholism: Clinical and Experimental Research 8, 435 - 441 (1984)

(28) LARREY, D., DISTLERATH, L.M., DANNAN, G.A., WILKINSON, G.R., GUENGERICH, F.P.: Purification and characterization of the rat liver microsomal cytochrome P-450 involved in the 4-hydroxylation of debrisoquine, a prototype for genetic variation in oxidative drug metabolism.
Biochemistry 23, 2787 - 2795 (1984)

(29) LENNARD, M.S., SILAS, J.H., SMITH, A.J., TUCKER, G.T.: Determination of debrisoquine and its 4-hydroxy metabolite in biological fluids by gas chromatography with flame-ionization and nitrogen-selective detection.
Journal of Chromatography 133, 161 - 166 (1977)

(30) LENNARD, M.S., SILAS, J.H., FREESTONE, S., THEVETHICK, J.: Defective metabolism of metoprolol in poor metabolizers of debrisoquine.
Br. J. Clin. Pharmac. 14, 301 - 303 (1982)

(31) MAHGOUB, A., IDLE, J.R., DRING, L.G., LANCASTER, R., SMITH, R.L.: Polymorphic hydroxylation of debrisoquine in man.
Lancet 2, 584 - 586 (1977)

(32) MAHGOUB, A., IDLE, J.R., SMITH, R.L.: A population and family study of the defective alicyclic hydroxylation of debrisoquine among Egyptians.
Xenobiotica 9, 51 - 56 (1979)

(33) MARSH, C.A.: Metabolism of D-glucuronolactone in mammalian systems. Identification of D-glucaric acid as normal constituent of urine.
Biochem. J. 86, 77 - 86 (1963)

(34) MBANEFO, C., BABABUNMI, E.A., MAHGOUB, A., SLOAN, T.P., IDLE, J.R., SMITH, R.L.: A study of debrisoquine hydroxylation polymorphism in a Nigerian population.
Xenobiotica 10, 811 - 818 (1980)

(35) MEIER, P., MÜLLER, H., DICK, B., MEYER, U.A.: Hepatic monooxygenase activities in subjects with a genetic defect in drug oxidation.
Gastroenterology 85, 682 - 692 (1983)

(36) MELLSTRÖM, B., BERTILSSON, L., SÄWE, J., SCHULZ, H.-U., SJÖQVIST, F.: E- and Z-10-hydroxylation of nortriptyline: relationship to polymorphic debrisoquine hydroxilation.
Clin. Pharmacol. Ther. 30, 189 - 193 (1981)

(37) MITCHELL, S.C., WARING, R.H., HALEY, C.S., IDLE, J.R., SMITH, R.L.: Genetic aspects of the polymodally distributed sulphoxidation of S-carboxy-methyl-L-cysteine in man.
Br. J. Clin. Pharmac. 18, 507 - 521 (1984)

(38) PRICE EVANS, D.A., MAHGOUB, A., SLOAN, T.P., IDLE, J.R., SMITH, R.L.: A family and population study of a genetic polymorphism of debrisoquine oxidation in white British population.
Journal of Medical Genetics 17, 102 - 105 (1980)

(39) RAGHURAM, T.C., KOSHAKJI, R.P., WILKINSON, G.R., WOOD, A.J.J.: Polymorphic ability to metabolize propranolol alters 4-hydroxypropranolol levels but not beta blockade. Clin. Pharmacol. Ther. 36, 51 - 56 (1984)

(40) ROOTS, I.: Genetische Ursachen für die Variabilität der Wirkungen und Nebenwirkungen von Arzneimitteln. Internist 23, 601 - 609 (1982)

(41) ROOTS, I.: Erprobung von In-vivo-Parametern des Arzneimittelstoffwechsels am Meerschweinchen und ihre Anwendung beim Menschen. Habilitationsschrift, Medizinische Fachbereiche der Freien Universität Berlin, 1981

(42) ROOTS, I., OTTE, F., BERCHTOLD, C., HEINEMEYER, G., SCHMIDT, D., CORNAGGIA, C.: Debrisoquine phenotyping in epileptic patients treated with phenytoin and carbamazepine. Biochemical Pharmacology 34, 447 - 448 (1985)

(43) SCHMID, B., PFAFF, G., HEIMBERG, A., BORNER, R., KÜPFER, A., PREISIG, R.: Polymorphic O-demethylation of dextromethorphan in man. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology Suppl. 329, R 13 (1985)

(44) SHAH, R.R., OATES, N.S. IDLE, J.R., SMITH, R.L., LOCKHART, J.D.E.: Impaired oxidation of debrisoquine in patients with perhexiline neuropathy. British Medical Journal 284, 295 - 299 (1982)

(45) SHAH, R.R., OATES, N.S., IDLE, J.R., SMITH, R.L.: Genetic impairment of phenformin metabolism. Lancet I, 1147 (1980)

(46) SLOAN, T.P., IDLE, J.R., SMITH, R.L.: Influence of D-H/D-L alleles regulating debrisoquine oxidation on phenytoin hydroxylation. Clin. Pharmacol. Ther. 29, 493 - 497 (1981)

(47) SLOAN, T.P., MAHGOUB, A., LANCASTER, R., IDLE, J.R., SMITH, R.L.: Polymorphism of carbon oxidation of drugs and clinical implications. British Medical Journal II, 655 - 657 (1978)

(48) SLOAN, T.P., LANCASTER, R., SHAH, R.R., IDLE, J.R., SMITH, R.L.: Genetically determined oxidation capacity and the disposition of debrisoquine. Br. J. Clin. Pharmac. 15, 443 - 450 (1983)

(49) SMITH, R.L., IDLE, J.R.: Genetic polymorphism in drug oxidation. In: Drug Reaktions and the Liver. Edited by Davis, M., Tredger, J.M., Williams, R.: Pitman Medical, London 1981, S. 95 - 104

(50) VASKO, M.R., BELL, D.R., DALY, D.D., PIPPENGER, C.E.: Inheritance of phenytoin hypometabolism: a kinetic study of one family.
Clin. Pharmacol. Ther. 27, 96 - 103 (1980)

(51) VESELL, E.S.: On the significance of host factors that affect drug disposition.
Clin. Pharmacol. Ther. 31, 1 - 7 (1982)

(52) VOGEL, F., MOTULSKY, A.G.: Human Genetics.
Springer, Berlin Heidelberg New York 1979

(53) WARING, R.H., MITCHELL, S.C , IDLE, J.R., SMITH, R.L.: Genetically determined impaired drug sulphoxidation.
Lancet I, 778 (1981)

(54) DE WOLFF, F., VERMEIJ, P., FERRARI, M., BURUMA, O., BREIMER, D.D.: Impairment of phenytoin parahydroxylation as a cause of severe intoxication.
Therapeutic Drug Monitoring 5, 213 - 215 (1983)

(55) WOOLHOUSE, N., ANDOH, B., MAHGOUB, A., SLOAN, T.P., IDLE, J.R., SMITH, R.L.: Debrisoquine hydroxylation polymorphism among Ghanaians and Caucasians.
Clin. Pharmacol. Ther. 26, 584 - 591 (1979)

(56) WOOSLEY, R.L., RODEN, D.M., DUFF, H.J., CAREY, E., WOOD, A.J., WILKINSON, G.R.: Coinheritance of deficient oxidative metabolism of encainide and debrisoquine.
Clin. Res. 29, 501 A (1981)

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv.-Doz. Dr. I. Roots,
der mich in exzellenter Weise betreute und förderte.

Herrn Dr. med. G. Heinemeyer danke ich für stete Hilfsbereitschaft und viele praktische Ratschläge zur Überwindung der Anfangsschwierigkeiten bei der Gaschromatographie.

Frau E. Berg und Frau B. Dalichow danke ich für ihre Hilfe bei den D-Glukarsäure- bzw. Phenytoin-Bestimmungen.

Lebenslauf

5.1.1959	geboren in Berlin
1.4.1965	Besuch der Klassen 1 -4 der 2. Grundschule in Berlin-Reinickendorf
1.4.1969	Besuch des Französischen Gymnasiums in Berlin
Dez. 1977	Erwerb der allgemeinen Hochschulreife am Französischen Gymnasium in Berlin
SS 1978	Immatrikulation an den Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin
März 1980	Absolvierung der ärztlichen Vorprüfung in Berlin
März 1981	Absolvierung des 1. Teiles der ärztlichen Prüfung in Berlin
seit April 82	Doktorand am Institut für Klinische Pharmakologie am Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin
März 1983	Absolvierung des 2. Teiles der ärztlichen Prüfung in Berlin
Okt.83/Sept.84	Praktisches Jahr
Dez. 1984	Staatsexamen und Erteilung der Approbation
1.5. 1985	Wiss. Mitarbeiter am Institut für Klinische Pharmakologie am Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin

Papyrus-Druck GmbH Berlin ☏ 3416451
Dissertationen